

CHEMISCHE UND STRUKTUR-ANALYTISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR BIOMORPHOSE DES KOLLAGENEN BINDEGEWEBES

von

WOLFGANG DENKHAUS

1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Pathologischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. H. Bredt)

CHEMISCHE UND STRUKTUR-ANALYTISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR BIOMORPHOSE DES KOLLAGENEN BINDEGEWEBES

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

WOLFGANG DENKHAUS

aus Malmedy

MAINZ 1968

Dekan: Prof. Dr. Dr. Thews
Referent: Priv.-Doz. Dr. H.-J. Schott
Korreferent: Prof. Dr. H. Bredt
Tag der mündlichen Prüfung: 13. Juli 1968



Gesamtherstellung: Ditters Bürodienst Mainz

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung und Fragestellung	1
B. Ziel und Grundlagen der angewandten Methoden	4
I. Struktur-analytische Methoden	4
II. Chemisch-analytische Methoden	7
III. Statistische Methoden	7
1. Korrelationsrechnung von meßbaren Variablen . . .	7
2. Regressionsrechnung	9
3. Partielle Korrelationen	9
C. Material und Methode	10
D. Ergebnisse	11
I. Meßwerte: Tab. 1-3	11
II. Statistische Resultate	14
1. Gesamtmatrix: Tab. 4 nach	14
2. Signifikante Korrelationen	15
a) Äquivalenz der chemischen und polarisations- optischen Meßwerte: Tab. 5; Abb. 2-9	15
b) Altersabhängige Veränderungen der unter- suchten chemischen und optischen Meßwerte: Tab. 6; Abb. 10-14	17
Formalgenetisch bedeutsame Korrelations- paare: Abb. 15-20	23
c) Korrelation der bestimmten Meßgrößen von Organ zu Organ: Tab. 7	23

E. Diskussion	25
I. Zusammenhang zwischen chemischen und polarisations- optischen Meßgrößen	25
II. Altersabhängige Veränderungen der untersuchten Meßgrößen:	
Aorta	27
Sehne	30
Herz	30
III. Formale Genese der Biomorphose des kollagenen Bindegewebes	30
IV. Zusammenhang der Meßgrößen der untersuchten Organe untereinander	33
V. Überlegungen zur Kinetik der Biomorphose des kollagenen Bindegewebes	33
F. Zusammenfassung	35
G. Literatur	37

A. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Der nichtzelluläre Anteil des Bindegewebes zeigt während seiner Reifung und Alterung charakteristische Veränderungen, die morphologisch, physikalisch und biochemisch in einer quantitativen und qualitativen Umstrukturierung seiner Elemente, der amorphen Grundsubstanz und den Gerüstproteinen bestehen (ZACHARIADES, M. P. A., 1900; NAGEOTTE, J., 1927, 1928, 1936; BANFIELD, W. G., 1954; BÜRGER, M., 1957, 1960; DYRBYE, M. O., 1959; VERZAR, F., 1965; HALL, A., 1964a, b).

Das ubiquitäre Vorkommen des Bindegewebes im menschlichen Organismus (RANDERATH, E., 1952) - mehr als ein Drittel des gesamten Körpereiwisses besteht aus Kollagen (VERZAR, F., 1961) - seine Dominanz in der Angiostruktur (BENNINGHOFF, A., 1930), sein im Gerüstproteinanteil relativ träger Stoffwechsel (NEUBERGER, A. und SLACK, H. G. B., 1953) und seine Bedeutung als Grenzmembran für die Diffusion und Permeation innerhalb parenchymatöser Organe (BUDDECKE, E., 1960 a, b) haben in den letzten Jahren Veranlassung gegeben, methodisch in unterschiedlichster Weise seinen biomorphotischen Wandlungen nachzugehen (Literaturübersicht bei MORSCHES, B., HOLZMANN, H. u. KORTING, G. W., 1966; VERZAR, F., 1965).

Die durch das Altern bedingten Veränderungen im Bindegewebe lassen sich im Wesentlichen auf wenige in ihrem Kausalzusammenhang noch weitgehend ungeklärte Grundvorgänge zurückführen.

Zunächst nimmt der Gesamtstoffwechsel der Bindegewebszellen im Laufe ihrer Biomorphose kontinuierlich ab, wie aus der verminderten Aufnahme und Einbau von S^{35} und C^{14} -Glycin hervorgeht (BOSTRÖM, H. and JORPES, E., 1953; NEUBERGER, A. and SLACK, H. G. B., 1953; HARTKNES, R. D., MARKO, A. M., MUIR, H. M. and NEUBERGER, Z., 1954; DYRBYE, M. O., 1959; HAUSS, W. H. and JUNGE-HÜLSING, G., 1960).

Auch ändert sich mit zunehmendem Alter die qualitative und quantitative Zusammensetzung des Bindegewebes in typischer Weise: In der Grundsubstanz kommt es neben einer Verminderung der Mucopolysaccharide zu einer Verschiebung ihrer Komponenten mit einer Abnahme von Chondroitinsulfat-A und Hyaluronat und einem Anstieg des Chondroitinsulfat-C und -B sowie des Keratinsulfates. Jedoch finden sich bei den einzelnen Untersuchern außerordentlich große Unterschiede in den Befunden, was an der Heterogenität der unter-

suchten Spezies und Organe, wie auch in methodischen Differenzen zu liegen scheint (LOEWI, G. and MEYER, K., 1958; KAPLAN, D. and MEYER, K., 1959, 1960; SOBEL, H. und Mitarbeiter 1954, 1956, 1958 a, b, 1960; ANDERSON, B. and ODELI, T. T., jr., 1960; MURRAY, D. H., WATTS, W. R. and RING, J. R., 1961).

Der Gerüstproteinanteil, das hochpolymere Kollagen, zeigt Veränderungen in seinem physiko-chemischen Verhalten, seiner Löslichkeit (AXELROD, A. E. and MARTIN, C. J., 1953; ORECHOWITSCH, V. N., TUSTANOWSKIJ, A. A. i PLOTNIKOWA, N. J., 1948; ORLOWSKA, G. V., SAIDES, A. L. i TUSTANOWSKIJ, A. A., 1956; JACKSON, R. D., 1957 a, b; KOBRLE, V. und CHVAPIL, M., 1958; VERZAR, F., 1960, 1963; VERZAR, F. und WILLENEGGER, H., 1961; CADAVIC, N. G., DENDUCHIS, B. and MANCINI, R. E., 1963), seiner Quellbarkeit (KÜNTZEL, A. und PRAKKE, F., 1933; BEAR, R. S., 1944, 1952; ROLLHÄUSER, H., 1951 b), seiner Zugfestigkeit und Elastizität (WÖLISCH, E., DU MESNIL DE ROCHMONT, R. und GERSCHLER, H., 1927; ROLLHÄUSER, H., 1951 a, b, c; VERZAR, F., 1956; CHVAPIL, M. und Mitarbeiter, 1959, 1963; GORDON, H. A. and VERZAR, F., 1963), seiner Resistenz gegen proteolytische Fermente (GROSS, J., 1950; HALL, D. A., 1964 a, b, 1957; KOHN, R. R. and ROLLERSON, E., 1958; FITZPATRIC, M. and HOSPELHORN, V. D., 1965; VERZAR, F., 1965) sowie seiner Thermo- und Chemokontraktilität (WÖLISCH, E., 1927; BANGA, I., 1953, 1956; BANGA, I., BALO, J. and SZABO, D., 1956; GUSTAVSON, K. H., 1954, 1956; VERZAR, F., 1956, 1957, 1960, 1963), die durch eine zunehmende Bildung von Querverbindungen (crosslinks) innerhalb des Kollagenmoleküls verursacht werden (VERZAR, F., 1956, 1960, 1965; BJORKSTEN, J., 1963; HÖRMANN, H., 1962, 1963; WOOD, G. C., 1962).

In dem Prozeß der Quervernetzung, der Bildung der "intermolekular crosslinks" wurde zunächst ein Analogon zur sog. "Kolloidalterung", bzw. der Wärmedenaturierung eines Kolloids bei Körpertemperatur (BUZAGH, A., 1952, ROLLHÄUSER, H., 1952; KOHN, R. and ROLLERSON, E. R., 1958) gesehen. Neuere Untersuchungen sprechen den Vernetzungen den Charakter von Esterbindungen zwischen Hydroxy- und Carboxy-Gruppen (GUSTAVSON, K. H., 1956) oder intramolekularen Zuckern - Zuckerbrücken - zu (HÖRMANN, H., 1962, 1963); daneben wird dem Einbau von HOH-Wasserbrücken, " - intrachain links -" in die Aminosäurekette (HARRINGTON, W. F. and v. HIPPEL, P. H., 1961) sowie dem als Folge von Oxydationsprozessen auftretenden, endogen vermehrt gebildeten "freien Radikalen" wie -OH und -OOH eine besondere Bedeutung zugemessen (HARMAN, D., 1960, 1962).

Der Vielfalt dieser biochemischen und physiko-chemischen Phänomenologie der Biomorphose des Bindegewebes steht eine weitgehende Ausdrucksarmut im morphologischen Substrat gegenüber. Zwar läßt sich elektronenmikroskopisch im Laufe der Alterung kollagener Fasern eine Verminderung der wässrig, vakuolisierten Phase der Zwischensubstanz bzw. ein Unterschied in der Haftfestigkeit von Kittsubstanz und Fibrillen zur Darstellung bringen (PAHLKE, G., 1954; BONDAREFF, W., 1957) und eine Verschiebung in den Verteilungskurven der Fibrillendicke nachweisen (PAHLKE, G., 1954; LINKE, K. W., 1955; WOLF, J., 1960, 1961; FICKE, K., FRICKE, R., GATTOW, G., HARTMANN, F. und SCHWARZ, W., 1960; OLSEN, B. R. 1963, 1964), jedoch ist vom Zeitpunkt der Reife bis ins hohe Senium keine Modifikation der Fibrillenstruktur als Äquivalent zu den physiko-chemischen Informationen nachgewiesen worden; darüber hinaus scheinen neueste Untersuchungen, die die präparativen Methoden in der Elektronenmikroskopie einer kritischen Beurteilung unterziehen, die Darstellbarkeit der Makromoleküle der Grundsubstanz stark in Zweifel zu ziehen (GIESEKING, R., 1966).

Ebenso sind auch die lichtmikroskopischen, polarisationsoptischen und histochemischen Untersuchungen bezüglich hochdifferenzierter, gruppenchemisch jedoch gleicher Stoffe sowie ihrer intramolekularen Struktur in der Aussage enge Grenzen gesetzt (BERTELSEN, S. and JENSEN, C. E., 1960; BERTELSEN, S., 1961 a; ANGRIST, A., 1964; STEIGLEDER, G. K., 1964). Es steht also einem breiten Spektrum chemisch-physikalischer Befunde eine begrenzte Anzahl relativ undifferenzierter morphologischer Ergebnisse gegenüber, die sich nur in Einzelaspekten zu entsprechen scheinen.

Es ist das Ziel der vorliegenden Untersuchung, die mit der Biomorphose einhergehenden Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung des kollagenen Bindegewebes am gleichen Objekt mit morphologisch nachweisbaren Umstrukturierungen zu korrelieren und beide quantitativ zu erfassen.

B. ZIEL UND GRUNDLAGEN DER ANGEWANDTEN METHODEN

Aus der Vielzahl der bisher zur Abklärung biochemischer, physikochemischer und morphologischer Probleme angewandten Methoden, eignen sich für die Bearbeitung einer bestimmten Fragestellung nur eine begrenzte Anzahl, die von der Art der gewünschten Informationen abhängig ist. Da die Auswahl der Methoden deduktiv nach ihrem wahrscheinlichen Informationswert erfolgt, sollte die Korrelation der gewonnenen Informationswerte zu einer ausreichenden induktiven Methodenkritik und zu einer Limitierung des Informationswertes führen.

Unsere Untersuchungen haben die Aufdeckung spezifischer Altersveränderungen des kollagenen Bindegewebes zum Ziel, nicht aber Probleme seiner Bildung und Reifung bzw. seines reaktiven oder degenerativen Verhaltens; deshalb kam ausschließlich Material von Unfalltoten und Patienten mit schnell wachsenden Hirntumoren zur Verwendung; die Altersverteilung mußte aufgrund der Fragestellung alle Gruppen vom frühen Erwachsenenalter bis zum hohen Senium umfassen.

I. STRUKTUR-ANALYTISCHE METHODE

Morphologisch mußte aufgrund der Fragestellung eine Methode zur Verwendung kommen, die es erlaubt, im histologischen Nativpräparat der zu untersuchenden Gewebe strukturspezifische, physikalisch-optische Meßwerte zu ermitteln. Hierzu eignet sich das polarisationsoptische Kompensationsverfahren in Kombination mit der Imbibitionsmethode.

Dem polarisationsoptischen Kompensationsverfahren (RINNE-BEREK, 1953; FREY-WYSSLING, A., 1953) liegen folgende physikalische Gegebenheiten zugrunde:

Ein senkrecht polarisierter Lichtstrahl, der aus einem optisch isotropen Medium (z. B. Luft) in ein optisch anisotropes (z. B. eine Kollagenfaser) übertritt, pflanzt sich in diesem Objekt, entsprechend der verschiedenen Brechzahlen, die beiden Schwingungsebenen zukommen, mit unterschiedlicher Geschwindigkeit fort. Die Strecke, um die der schnellere Anteil dem langsameren voraus eilt, wird als Gangunterschied (τ) bezeichnet. Er ist eine Funktion der Brechzahl-differenz ($n_j - n_k$) und der durchlaufenden Schichtdicke (d):

$$\Gamma = d (n_j - n_k) \quad (1)$$

Die Brechzahldifferenz ist ein Maß für die Stärke der Doppelbrechung eines Mediums und wird als Maßzahl gemessen; ihren Zusammenhang mit dem Gangunterschied gibt Formel (2) wieder:

$$(n_j - n_k) = \frac{\Gamma}{d} \quad (2)$$

Zur Messung des Gangunterschiedes wird zwischen Objekt und Analysator ein Kompensator in den Strahlengang gebracht, mit dessen Hilfe der Gangunterschied zwischen den beiden polarisierten Lichtstrahlenanteilen ausgeglichen, d. h. zu Null kompensiert wird. Hierbei kommen beide Anteile im Analysator unter 45° entsprechend einer Phasendifferenz von $1/2\lambda$ zur Interferenz und löschen sich aus. Der zur Kompensation nötige Gangunterschiedsausgleich wird in Winkelgraden gemessen und nach der Kompensatorformel

$$\Gamma = \Gamma_0 \sin (2\gamma) \quad (3)$$

in $m\mu$ umgerechnet. Γ_0 ist eine von der Lichtwellenlänge abhängige Kompensatorkonstante.

Die Imbibitionsmethode (AMBRONN, H., 1916a, b; FREY, A., 1925, 1926 a, b; FREY-WYSSLING, A., 1936, 1953; SCHMIDT, W. J., 1924, 1938, 1941) hat das Axiom zur Voraussetzung, daß optische Anisotropie stets Ausdruck struktureller Anisometrie ist, d. h., dem optischen Phänomen liegt ein Feinbau zugrunde, der nach Richtungen verschieden, anisometrisch ist. Die Bauelemente können amikroskopisch - Atome, Moleküle - oder submikroskopisch - Makromoleküle, Molekülaggregate - sein und brauchen selbst keine Doppelbrechung zu zeigen. Voraussetzung ist lediglich, daß diese Makromoleküle untereinander geordnet sind und in Phasengrenzen aneinander stoßen. Dadurch erklärt sich die Doppelbrechung von Parakristallen, Gelen, lipoiden Schichten und pflanzlichen sowie tierischen Faserelementen. Diese Substanzen werden in ihrem optischen Verhalten weitgehend durch die WIENERSchen Mischkörper beschrieben (WIENER, O., 1912, zit. n. RINNE-BEREK, 1953).

Demgemäß beruht die Doppelbrechung der kollagenen Faser auf einer Orientierung ihrer submikroskopischen Fibrillen einerseits und der damit verbundenen Ausrichtung der intermikrofibrillären Kittsubstanz andererseits. FREY (1926) nannte diese Art der Doppelbrechung, die auf der Form und Anordnungs-

weise der submikroskopischen Teilchen beruht, Formdoppelbrechung. Sie ist allein abhängig von der Differenz der Brechzahlen der beteiligten Komponenten und dem Verhältnis ihrer Volumina. Sind die Brechzahlen unterschiedlich, aber konstant, so wird die Formdoppelbrechung um so größer, je mehr sich das Volumenverhältnis der beteiligten Komponenten dem Wert 1 nähert. Bei veränderlichen Brechzahlen wird die Formdoppelbrechung um so schwächer, je geringer die Differenz der Brechzahlen ist; haben die Bausteine gleiche Brechungsindizes, so verschwindet die Formdoppelbrechung ganz. Bleibt bei Übereinstimmung der Brechzahlen eines solchen Mischkörpers eine Restdoppelbrechung erhalten, so kann diese nur auf der Anisotropie der submikroskopischen Bausteine selbst beruhen. Sie wird als Eigendoppelbrechung bezeichnet und ist Ausdruck der submikroskopischen Anisometrie des untersuchten Stoffes, d. h., von dem Grad der Festigkeit und Ausrichtung der zugrundeliegenden Textur.

Die Gesamtdoppelbrechung (G) eines solchen Mischkörpers entspricht demnach der Summe seiner Form-(F) und Eigendoppelbrechung (E).

$$G = E + F$$

Aufgrund ihrer optischen Eigenschaften kann die Kollagenfaser als Mischkörper angesehen werden (KÜNTZEL, A., 1939, 1941, 1957; FREY-WYSSLING, 1953, SCHMIDT, W. J., 1957). Diese Beschaffenheit ermöglicht die differenzierte quantitative Erfassung ihrer optischen Meßgrößen, der Gesamtdoppelbrechung (GD), Eigen- (ED) und Formdoppelbrechung (FD): Imbibiert man nämlich eine solche Faser mit Flüssigkeit steigender Brechzahl, die in die intermikrofibrillären Räume der Faser eindringen können und so die Grundsubstanz überlagern, so gleichen sich auf diese Weise die Brechzahlen von Grundsubstanz und Gerüstprotein aneinander an; dadurch nimmt die Formdoppelbrechung (FD) der Faser in gesetzmäßiger Weise ab, wodurch die Faserdoppelbrechung als solche ebenfalls geringer wird. Bei Brechzahlgleichheit von Grundsubstanz und Mikrofibrillen erreicht die gesamte Faserdoppelbrechung (GD) ihren niedrigsten Wert, da die Formdoppelbrechung aufgehoben ist; die Restdoppelbrechung entspricht der Eigendoppelbrechung (ED) der Faser. Eine weitere Erhöhung des Brechindex der Imbibitionsflüssigkeit ruft erneut eine Differenz der Brechzahlen von Kittsubstanz und Mikrofibrillen hervor; es kommt wiederum zum Auftreten von Formdoppelbrechung und damit zu einem Anstieg der Gesamtdoppelbrechung (GD) (Abb. 1). Wird die Größe der Doppelbrechung gegen die Brechzahlen der Imbibitionsflüssigkeiten graphisch aufgetragen, so ergibt sich eine Parabel, in deren Scheitelpunkt die Formdoppelbrechung aufgehoben ist; die Ordinate des Scheitelpunktes entspricht der Größe der Eigendoppelbrechung des Strukturproteins, die Abszisse seiner Brechzahl (ROLLHÄUSER, H., 1952).

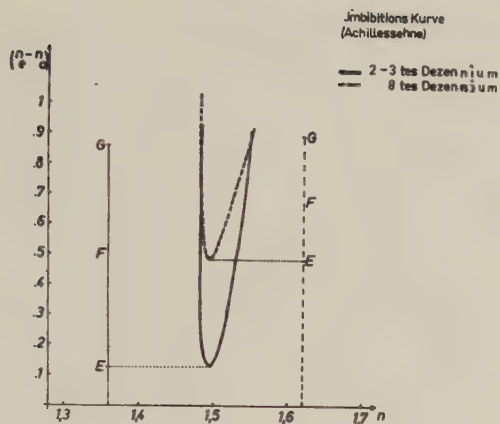


Abb. 1

Abb.1: Imbibitionskurven von Achillessehnen.

Ausgezogene Linie entspr.d. 2 ten Dezennium,
gestrichelte Linie entspr.d.8 ten Dezennium.

G = Gesamtdoppelbrechung bezogen auf aqua dest.

E = Eigendoppelbrechung

F = Formdoppelbrechung

II. CHEMISCH-ANALYTISCHE METHODEN

Da die physikalisch-optischen Meßwerte sich auf Informationen über das Gerüstprotein und die Intermikrofibrillarsubstanz in ihrer Gesamtheit bzw. ihr gegenseitiges Verhältnis beziehen, ist bei der Wahl der chemisch-analytischen Methoden Wert auf die Gewinnung in etwa äquivalenter Meßgrößen zu legen.

Charakteristisch für die Aminosäurezusammensetzung des kollagenen Gerüstproteins ist sein besonders hoher Gehalt an Hydroxyprolin (TRISTRAM, G. R., 1953; BLOCK, R. I. and BOLLING, D., 1945; SCHAUENSTEIN, E. and STANKE, D., 1951). Diese Aminosäure ist zu 11,2 - 13,4 - 14,0 Gew. Proz. im Kollagen enthalten (SCHAUENSTEIN, E. and STANKE, D., 1951; LEUTHARDT, F., 1963; STARY, Z., 1963) und kommt in den übrigen Gewebsproteinen praktisch nicht vor. Aus diesem Grund fand in der vorliegenden Arbeit der Gehalt der Gewebe an Hydroxyprolin als Maßzahl für ihren Kollagengehalt Verwendung (NEUMANN, R. E. and LOGAN, M. A., 1950 a, b; MARTIN, C. J. and AXELROT, A. E., 1953; STEGEMANN, H., 1958, HUTTERER, F., RUBIN, E., SINGER, E. J. and POPPER, H., 1959; WOESNER, J. F., 1961, VERZAR, F., 1965, MORSCHES, B., HOLZMANN, H. u. KORTING, G. W., 1965).

In der Fasergrundsubstanz sind alle organischen Stoffgruppen nachgewiesen worden (LEUTHARDT, F., 1963), jedoch scheinen die sauren und neutralen Mucopolysaccharide quantitativ zu dominieren. Kennzeichnend für alle Mucopolysaccharide ist die Gegenwart eines Aminozuckers, des Glucosamin bzw. Galaktosamin, die meist in N-acetylierter Form vorliegen; demzufolge wurden diese gruppenchemisch gleichen Stoffe als Hexosamin zur Bestimmung einer quantitativen Variablen für die Fasergrundsubstanz gewählt (SOBEL, H. u. Mitarb., 1956, 1958 a, b; 1960; ANGEVINE, D. M. and SEASTONE, C. V., 1950; MEYER, K. und Mitarb., 1959, 1960; KAPLAN, D. and MEYER, K., 1960; ANDERSON, B. and ODELL, T. T., jr., 1960).

III. STATISTISCHE AUSWERTUNG

Kernstück der vorliegenden Untersuchung ist das Bemühen, Zusammenhänge zwischen den beschriebenen Variablen in Bezug auf Altersveränderungen, Äquivalenz und Organspezifität herauszufinden. Dazu wurden folgende statistische Methoden zu Hilfe genommen:

1. Korrelationsrechnung von meßbaren Variablen

Die Untersuchung von Abhängigkeiten zwischen den gewonnenen Meßwerten wurde anhand der Korrelationsrechnung durchgeführt. Dazu werden zunächst

die Variablen paarweise in ein Koordinatensystem übertragen, wodurch bereits aus der Verteilung der Punkte ein linearer Zusammenhang zwischen den beiden Größen nahegelegt oder weitgehend ausgeschlossen werden kann. Das rechnerische Maß für einen linearen Zusammenhang stellt der BRAVAIS PEARSONsche Korrelationskoeffizient r dar.

Er hat die Größe

$$r = \frac{S_{xy}}{S_{xx} \cdot S_{yy}}$$

darin ist

$$\begin{aligned} S_{xy} &= \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y}) \cdot (x_i - \bar{x}) \\ &= \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i - \frac{\sum_{i=1}^n x_i \cdot \sum_{i=1}^n y_i}{n}; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} S_{xx} &= \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \\ &= \sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} S_{yy} &= \text{analog } S_{xx} \\ &= \sum_{i=1}^n y_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n y_i)^2}{n} \end{aligned}$$

Ist der absolute Wert von $r = 1$, dann liegt eine vollständige, lineare Abhängigkeit vor, wie bei einer mathematischen Funktion. Beträgt dagegen $r = 0$, so besteht kein linearer Zusammenhang zwischen den untersuchten Größen.

Der Korrelationskoeffizient wird mit Hilfe der Nullhypothese auf Signifikanz bzw. Auffälligkeit geprüft. Die Nullhypothese lautet: Der Wert des Korrelationskoeffizienten r der Grundgesamtheit, aus der die vorliegenden Fälle gewissermaßen eine Stichprobe sind, beträgt Null. Der tatsächlich bei den vorliegenden Fällen errechnete Korrelationskoeffizient stellt eine Zufallsabweichung des Nullwertes der Grundgesamtheit dar. Je größer jedoch der Korrelationskoeffizient ist, um so geringer wird die Wahrscheinlichkeit, daß es sich um eine zufällige Abweichung vom Nullwert handelt: Die Wahrscheinlichkeit für das Zutreffen der Nullhypothese wird gering. Wird diese Wahrscheinlichkeit kleiner als 1%, so nimmt man an, daß eine gesicherte (signifikante) lineare Beziehung zwischen den untersuchten Größen besteht; bei 1 - 5% ist die Beziehung statistisch auffällig. Die Wahrscheinlichkeit für das Zutreffen der Nullhypothese bei ihrer Ablehnung nennt man Irrtumswahrscheinlichkeit P ; ($P = 1$ bzw. 5%).

2. Regressionsrechnung

Die Formel für die Regressionsgerade lautet:

$$\begin{aligned} y_R &= bx + a && \text{darin ist} \\ b &= \frac{S_{xy}}{S_{xx}} && \text{der Regressionskoeffizient und} \\ a &= \bar{y} - b\bar{x} && \text{die Regressionskonstante.} \end{aligned}$$

Mit Hilfe der Regressionsgeraden kann für jeden in Frage kommenden x -Wert der dazugehörige durchschnittliche y -Wert errechnet werden.

3. Partielle Korrelation

Eine Korrelation von zwei Variablen kann dadurch zustande kommen, daß diese beiden Größen von einer dritten abhängen. Der Einfluß dieser dritten Größe kann mittels der partiellen Korrelation ausgeschaltet werden. Hat man es also mit drei Reihen von Variablen zu tun, dann ist der sog. partielle Korrelationskoeffizient ein Maß für den Zusammenhang zwischen zwei Größen bei Konstanterhaltung der dritten. Auf diese Weise ist es möglich, aus einer Anzahl von Informationen, die unter dem Einfluß jeder einzelnen in höchst komplexer Weise zustande gekommen sind, retrospektiv den Zusammenhang eines Paares von ihnen zu untersuchen, so, als habe er sich ohne Einwirkung der anderen Variablen ausgebildet. Die Formel für den Zusammenhang von x und y unter Konstanterhaltung von z lautet:

$$r_{xy \cdot z} = \frac{r_{xy} - r_{xz} \cdot r_{yz}}{\sqrt{(1-r_{xz}^2)(1-r_{yz}^2)}}$$

C. MATERIAL UND METHODE

Untersucht wurde histologisch unverändertes Gewebe von der Vorderwand des linken Herzventrikels, aus der Übergangsstelle vom Arcus aortae zur Aorta descendens nach Abgang der großen Halsgefäße sowie die Achillessehne der linken unteren Extremität von 20 Leichen zwischen dem 18. und 85. Lebensjahr.

Imbibitionsverfahren:

Aus den beiden in jedem beliebigen Verhältnis mischbaren Flüssigkeiten Terpeneol ($n = 1,483$) und Tetralin ($n = 1,549$) wurde eine Flüssigkeitsreihe mit steigender Brechzahl hergestellt, die zur Imbibition von je drei $10\ \mu$ dicken Gefrierschnitten verwendet wurde (ROLLHÄUSER, H., 1952). Zur Bestimmung der Gesamtdoppelbrechung dienten nicht imbibierte Schnitte, die mit einem Tropfen Aqua dest. aufgezogen wurden (LINDER, J., v. SCHWEINITZ, H. und FREYTAG, G., 1960). Die Messung der Doppelbrechung wurde an einem Ortholux-Pol-Mikroskop der Firma Leitz unter Zuhilfenahme eines Brace-Köhler-Kompensators durchgeführt.

Chemische Methoden:

Der Hydroxyprolinegehalt der Gewebe wurde nach der Methode von NEUMANN and LOGAN (1950 a, b), modifiziert nach H. STEGEMANN (1958) bestimmt, der Hexosamingehalt nach dem Verfahren von ELSON and MORGAN (1933), modifiziert nach SOBEL, H. und Mitarb. (1958 a); die Bestimmungen wurden mit dem Eppendorff-Photometer durchgeführt und mit dem Spectralphotometer mit automatischer Schreibung der Firma Zeiss generell kontrolliert.

Statistische Auswertung:

Zur statistischen Auswertung kamen die Mittelwerte von drei Stufenschnitten pro Gewebstück mit fünf Messungen an fünf verschiedenen Fasern. Die Korrelationsrechnungen wurden mit einem Bibliotheksprogramm der Universität von Kalifornien (Los Angeles) auf der IBM 7090 im Deutschen Rechenzentrum Darmstadt vorgenommen; die Zufallhöchstwerte von r in Abhängigkeit von den sog. Freiheitsgraden (Zahl der Fälle minus zwei) wurde mittels einer Tafel in den Dokumenta Geigy geprüft. Die Bestimmung der partiellen Korrelationen erfolgte anhand der KOLLERschen "Graphischen Tafeln" (Darmstadt 1953).

D. ERGEBNISSE

I. MESSWERTE

Die Meßergebnisse an Herz, Aorta und Sehne sind als Mittelwerte in den Tabellen 1 bis 3 zusammengefaßt:

Nr. des Falles	Alter	Geschl.	HERZ				
			x_{Hypro} %	x_{Hexa} %	$+GD 10^{-6}$ $m\mu$	$+ED 10^{-6}$ $m\mu$	$+FD 10^{-6}$ $m\mu$
1	18	0	0,34	0,04	199	22	176
2	19	1	0,28	0,05	198	18	180
3	20	1	0,31	0,05	199	28	171
4	27	1	0,42	0,06	198	31	167
5	28	1	0,51	0,09	204	25	179
6	33	0	0,35	0,06	198	28	170
7	35	1	0,39	0,08	200	32	168
8	39	0	0,44	0,05	199	44	155
9	46	1	0,27	0,04	199	36	163
10	55	1	0,53	0,05	197	49	148
11	59	0	0,39	0,07	194	54	140
12	62	1	0,35	0,05	197	62	135
13	64	0	0,49	0,06	198	68	130
14	73	0	0,16	0,04	201	67	134
15	78	1	0,36	0,07	198	71	127
16	80	1	0,52	0,06	198	67	131
17	81	0	0,34	0,06	192	64	128
18	83	1	0,45	0,06	201	74	127
19	84	1	0,23	0,04	195	74	121
20	85	1	0,43	0,07	195	71	123

Tab. 1: Ergebnisse der chemischen und optischen Analyse für das Herz.

Geschlecht: 1 = männlich GD: Gesamtdoppelbrechung $\times 10^{-6}$
 0 = weiblich ED: Eigen " " $\times 10^{-6}$
 FD: Form " " $\times 10^{-6}$

Hypro: Hydroxyprolingehalt/Trockengewicht in %

x und + = siehe S. 12 oben

x Durchschnittswerte von jeweils 4 Messungen

+ Mittelwerte von 5 Messungen an 5 verschiedenen Fasern von jeweils 3 histol. Schnitten eines Gewebstückes, entsprechend 75 Messungen pro Gewebstück

AORTA							
Nr. des Falles	Alter	Geschl.	^x Hypro %	^x Hexa %	⁺ GD 10 ⁻⁶ m μ	⁺ ED 10 ⁻⁶ m μ	⁺ FD 10 ⁻⁶ m μ
1	18	0	3,64	0,53	340	89	251
2	19	1	4,19	0,60	330	69	241
3	20	1	3,27	0,62	341	92	249
4	27	1	3,16	0,71	335	92	243
5	28	1	2,97	0,58	330	92	238
6	33	0	3,81	0,62	330	110	220
7	35	1	3,42	0,64	333	94	239
8	39	0	3,62	0,67	342	100	242
9	46	1	4,01	0,63	307	97	210
10	55	1	3,90	0,68	282	111	172
11	59	0	3,85	0,69	274	118	156
12	62	1	4,13	0,74	263	124	139
13	64	0	3,75	0,72	259	119	140
14	73	0	4,22	0,70	257	126	131
15	78	1	3,71	0,71	260	126	134
16	80	1	4,57	0,73	248	126	122
17	81	0	4,47	0,61	257	123	134
18	83	1	3,41	0,68	269	126	143
19	84	1	3,77	0,68	254	119	135
20	85	1	3,94	0,71	240	126	114

Tab. 2: Ergebnisse der chemischen und optischen Analyse für die Aorta (Text wie 1).

SEHNE							
Nr. d. Falles	Alter	Geschl.	x_{Hypro} %	x_{Hexa} %	$+GD 10^{-6}$ m μ	$+ED 10^{-6}$ m μ	$+FD 10^{-6}$ m μ
1	18	0	8,52	0,71	878	600	278
2	19	1	7,85	0,79	880	587	293
3	20	1	8,22	0,79	878	589	289
4	27	1	8,92	0,79	879	589	290
5	28	1	8,25	0,72	879	575	204
6	33	0	9,04	0,78	878	589	289
7	35	1	8,58	0,70	875	578	297
8	39	0	8,23	0,72	879	593	286
9	46	1	8,53	0,62	878	642	236
10	55	1	8,82	0,59	878	672	206
11	59	0	8,07	0,61	879	634	245
12	62	1	8,43	0,57	880	723	157
13	64	0	8,58	0,52	877	785	92
14	73	0	8,85	0,51	878	822	56
15	78	1	8,24	0,43	879	839	40
16	80	1	8,68	0,49	879	832	47
17	81	0	9,25	0,50	875	770	105
18	83	1	7,83	0,43	876	825	51
19	84	1	8,23	0,49	879	825	54
20	85	1	7,82	0,48	880	819	61

Tab. 3: Ergebnisse der chemischen und optischen Analyse für die Sehne
(Text wie 1).

II. STATISTISCHE RESULTATE

1. Gesamtmatrix

Zur mathematisch-statistischen Auswertung wurde elektronisch eine Korrelationsmatrix folgender 17 Meßgrößen (Variabler) errechnet, d.h., es wurde jede Größe mit jeder anderen korreliert.

1. Alter
2. Geschlecht
3. Hydroxyprolin_{Herz} (HP_H)
4. Hexosamin_{Herz} (HA_H)
5. Gesamtdoppelbrechung_{Herz} (GD_H)
6. Eigendoppelbrechung_{Herz} (ED_H)
7. Formdoppelbrechung_{Herz} (FD_H)
8. Hydroxyprolin_{Aorta} (HP_A)
9. Hexosamin_{Aorta} (HA_A)
10. Gesamtdoppelbrechung_{Aorta} (GD_A)
11. Eigendoppelbrechung_{Aorta} (ED_A)
12. Formdoppelbrechung_{Aorta} (FD_A)
13. Hydroxyprolin_{Sehne} (HP_S)
14. Hexosamin_{Sehne} (HA_S)
15. Gesamtdoppelbrechung_{Sehne} (GD_S)
16. Eigendoppelbrechung_{Sehne} (ED_S)
17. Formdoppelbrechung_{Sehne} (FD_S)

Ferner wurden, um Geschlechtsunterschiede zu erfassen, in zwei weiteren Übersichtsmatrizen die Gesamtkorrelationen getrennt nach Geschlechtern aufgestellt. Es zeigten sich jedoch keine geschlechtsspezifischen Unterschiede.

H E R Z				A O R T A				S E H N E								
Alter	Geschlecht	Hypro	Hexa	GD	ED	FD	Hypro	Hexa	GD	ED	FD	Hypro	Hexa	GD	ED	FD
Alter	1	Ø	Ø	Ø	+++	++	+	+	+	++	++	Ø	++	Ø	++	++
Geschlecht	0,0314	1	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
H Hypro	0,0281	0,1474	1	++	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
E Hexa	0,0098	0,1764	+0,5684	1	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
R Gd	-0,3911	0,2297	0,1219	0,1849	1	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Z ED	+0,9709	-0,0156	0,0489	-0,0355	-0,3491	1	Ø	Ø	++	++	++	Ø	Ø	++	Ø	++
FD	-0,9718	0,0384	-0,0307	0,0513	+0,4591	-0,9927	1	+	++	++	++	Ø	Ø	++	Ø	++
A Hypro	+0,4922	0,2133	-0,2452	-0,3856	-0,5319	0,4092	-0,4555	1	++	+	++	Ø	Ø	Ø	+	+
D Hexa	+0,6454	0,1917	0,1948	0,0440	-0,1850	+0,7305	-0,7158	0,2451	1	++	++	Ø	++	Ø	++	++
R GD	-0,9515	-0,0314	-0,0169	0,0188	0,4383	-0,9303	+0,9413	-0,5785	-0,6613	1	++	Ø	++	Ø	++	++
T ED	+0,9398	-0,1104	0,0375	0,0147	-0,3792	+0,9377	-0,9386	+0,5322	+0,6925	-0,9327	1	Ø	++	Ø	++	++
A FD	-0,9615	0,0093	-0,0215	0,0090	0,4273	-0,9456	+0,9538	-0,5732	-0,6793	-0,9946	-0,9650	1	Ø	Ø	++	++
S Hypro	-0,0412	-0,3743	-0,0410	-0,1453	-0,1498	-0,0824	0,0617	0,2552	-0,0495	0,0316	0,0247	0,0168	1	Ø	Ø	Ø
E Hexa	-0,9592	-0,0555	-0,0469	0,0060	0,2755	-0,9421	+0,9301	-0,4388	-0,5655	+0,9296	-0,8873	+0,9304	0,0941	1	Ø	++
H GD	-0,0945	0,2483	-0,0367	-0,1303	-0,0243	-0,0576	0,0497	0,0659	0,2510	-0,0264	-0,0258	-0,0120	-0,4141	0,1402	1	Ø
N ED	+0,9390	0,0679	-0,0492	-0,1061	-0,2626	+0,9385	-0,9256	+0,4768	+0,6127	-0,9263	+0,8925	-0,9299	-0,0632	-0,9486	-0,0371	1
E FD	-0,9397	-0,0644	0,0487	0,1042	0,2621	-0,9387	+0,9257	-0,4756	-0,6089	+0,9254	-0,8923	+0,9292	0,0575	+0,9500	0,0508	-0,9993

Tab. 4: Korrelations-Koeffizient der chem.u.optisch
analytischen Daten (Gesamtmatrix)

++ = signifikant linear (P 1 %)
+ = auffällig linear (P 5 %)
Ø = kein Zusammenhang
+ = positiver Zusammenhang
- = negativer Zusammenhang

2. Signifikante Korrelationen

Aus der Übersichtsmatrix (Tab.4) wurden die signifikanten Korrelationen nach folgenden Gesichtspunkten untersucht und zur Auswertung herangezogen:

- a) Äquivalenz optischer- und chemischer Analyse:
Welche der optisch-physikalischen Meßgrößen hat eine direkte, lineare Beziehung zu einem der chemisch bestimmten Werte? (Tab. 5, Abb. 2-9.)
- b) Biomorphotische Wandlungen des kollagenen Bindegewebes:
Welche der bestimmten Meßgrößen hat eine direkte, lineare Beziehung zum Alter? (Tab. 6, Abb. 10-14.)
- c) Organ-Topologie des kollagenen Bindegewebes:
Korrelieren die Werte bestimmter Meßgrößen von Organ zu Organ? (Tab. 7.)

Da im weiteren nur die signifikanten stochastischen Beziehungen zu diesen Fragekomplexen Berücksichtigung finden, muß zu einer richtigen Beurteilung darauf hingewiesen werden, daß trotz Signifikanz immer mit der einkalkulierten Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% gerechnet werden muß. Es sind bei einer Anzahl von ca. 500 berechneten Korrelationskoeffizienten immerhin 5 nur zufällig "gesicherte" Ergebnisse zu erwarten.

Weiterhin ist bei der Beurteilung der gefundenen Beziehungen zu berücksichtigen, daß aufgrund der Programmierung die stochastischen Korrelationen ausschließlich auf ihren linearen Charakter geprüft wurden; damit ist lediglich gesagt, daß bei Signifikanz eines Korrelationskoeffizienten der Zusammenhang zwischen den beiden untersuchten Meßwerten durch eine lineare Funktion beschrieben werden kann. Ob die lineare Funktion den biologischen Zusammenhang optimal oder auch nur adäquat wiedergibt, ist damit noch in keiner Weise entschieden.

- a) Signifikante Korrelationspaare zur Frage der Äquivalenz der chemischen und polarisationsoptischen Meßwerte (Tab. 5; Abb. 2-9).

Von den möglichen 18 Korrelationspaaren zeigen bei Ausschaltung der gemeinsamen Altersabhängigkeit nur drei Korrelationspaare einen auffälligen bzw. signifikanten Zusammenhang:

Es besteht eine negative lineare Beziehung zwischen dem Hydroxyprolinegehalt und der Formdoppelbrechung der Aorta sowie dem Hexosamingehalt und der Eigen- und Formdoppelbrechung im Sehngewebe.

Unter Einfluß der Biomorphose treten weitere Abhängigkeiten hervor, besonders in der Aortenmedia; hier kommt eine positive Proportionalität sowohl zwischen Hydroxyprolin und Eigendoppelbrechung wie auch zwischen Hexosamin und Eigendoppelbrechung zum Ausdruck.

Die Beziehung zwischen den beiden chemischen Meßwerten und der Formdoppelbrechung stellen sich unter Berücksichtigung des Alters negativ proportional dar.

Korrelation			r (gesamt)	r (partiell)
Hypro	Herz : ED Herz		+ 0,0489	- 0,052
Hypro	Herz : FD Herz		- 0,0307	- 0,023
Hexa	Herz : ED Herz		- 0,0355	+ 0,037
Hexa	Herz : FD Herz		- 0,0531	- 0,031
+ Hypro	Aorta : ED Aorta		+ 0,5322 ⁺	- 0,052
+ Hypro	Aorta : FD Aorta		- 0,5732 ⁺	- 0,386 ⁺
+ Hexa	Aorta : ED Aorta		+ 0,6925 ⁺	+ 0,098
+ Hexa	Aorta : FD Aorta		- 0,6793 ⁺	+ 0,152
Hypro	Sehne : ED Sehne		- 0,0632	+ 0,039
Hypro	Sehne : FD Sehne		- 0,0575	- 0,035
+ Hexa	Sehne : ED Sehne		- 0,9486 ⁺	- 0,730 ⁺
+ Hexa	Sehne : FD Sehne		+ 0,9500 ⁺	- 0,684

Tab. 5: Zusammenhang zwischen Hydroxyprolingehalt bzw. Hexosamingehalt und Eigendoppelbrechung bzw. Formdoppelbrechung unter Einwirkung der Biomorphose (r_{gesamt}) und unter Ausschluß der durch die Biomorphose hervorgerufenen strukturellen Veränderungen (r_{partiell}).

⁺: stat. signifikante bzw. auffällige Korrelationen

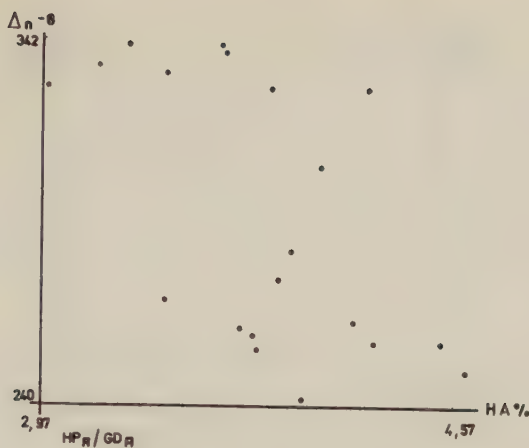


Abb.2: Hydroxyprolingehalt und Gesamtdoppelbrechung des Kollagens in der Aortenmedia; stat. auffälliger, negativer Zusammenhang.

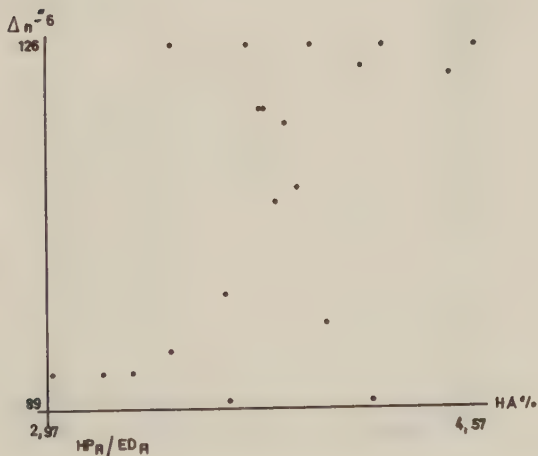


Abb.3: Hydroxyprolingehalt und Eigendoppelbrechung in der Aorta; die Größen verhalten sich direkt proportional.

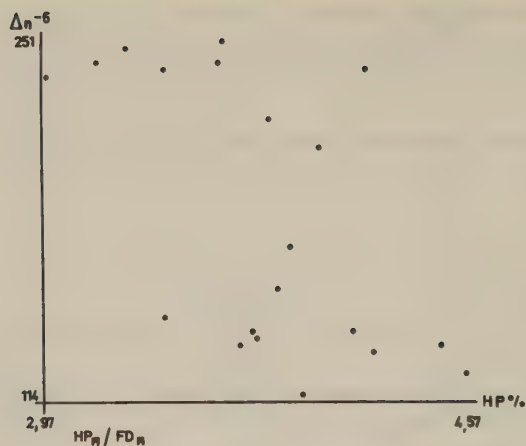


Abb.4: Hydroxyprolingehalt und Formdoppelbrechung in der Aortenmedia; die Größen korrelieren negativ.

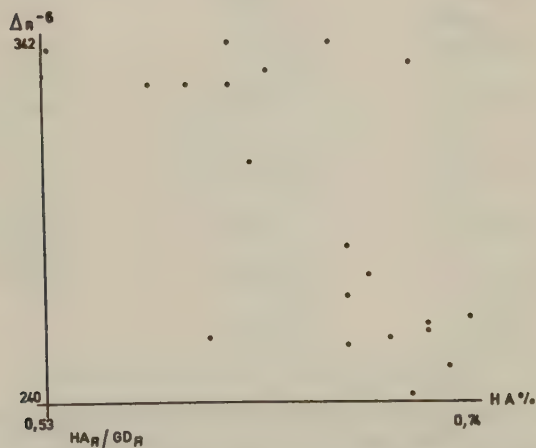


Abb.5: Anstieg des Hexosamingehaltes der Aortenmedia geht einher mit Abfall der Gesamtdoppelbrechung.

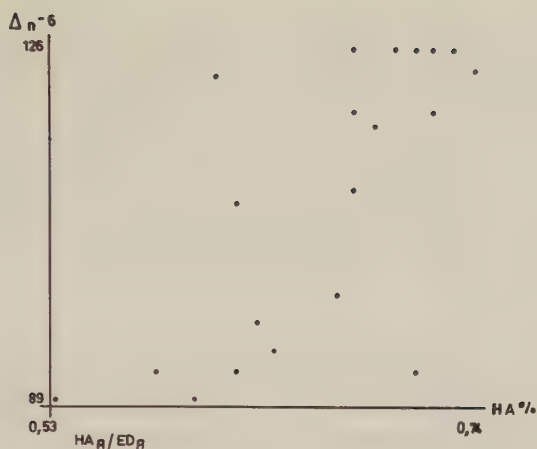


Abb.6: Eigendoppelbrechung der Aortenmedia steigt mit Zunahme ihres Hexosamingehaltes.

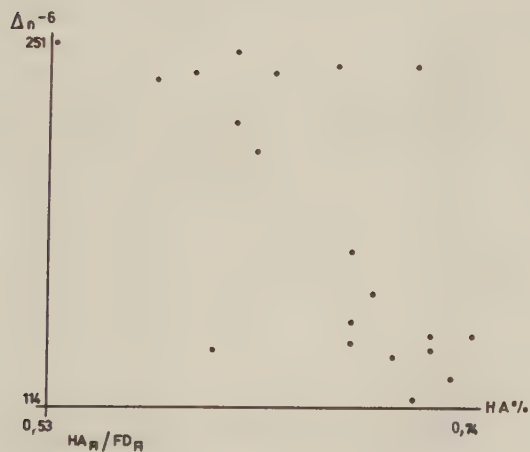


Abb.7: Hexosamingehalt und Formdoppelbrechung im Kollagen der Aortenmedia sind umgekehrt proportional.

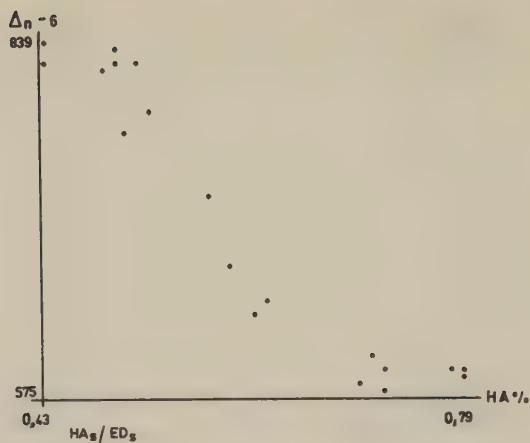


Abb.8: Hexosamingehalt und Eigendoppelbrechung der Sehne;
nahezu linearer negativer Zusammenhang.

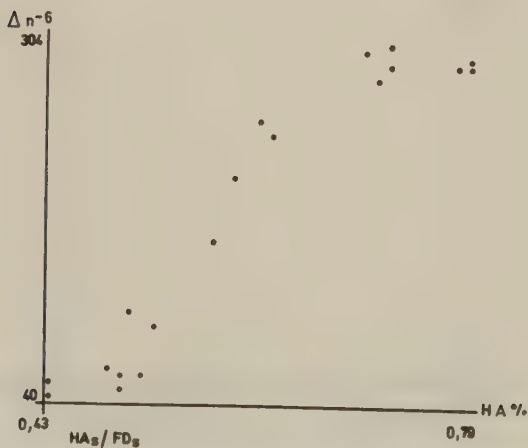


Abb.9: Direkte Proportionalität von Hexosamingehalt und
Formdoppelbrechung der Sehne.

b) Altersabhängige Veränderungen der untersuchten chemischen und polarisationsoptischen Meßwerte (Tab.6; Abb.10-14).

Die altersabhängigen Veränderungen der untersuchten biochemischen und optisch-analytischen Meßgrößen des kollagenen Bindegewebes zeigen eine deutliche Organoptik: Das kollagene Bindegewebe des Herzinterstitiums läßt keine charakteristischen Veränderungen seines Hydroxyprolin- und Hexosamingehaltes erkennen. Es kommt lediglich zu einer deutlichen Zunahme seiner Eigen- und zu einer ebenso signifikanten Abnahme seiner Formdoppelbrechung.

In der Aortenmedia steigt sowohl der Hydroxyprolin- wie auch der Hexosamingehalt signifikant an, der letztere jedoch deutlich stärker als der erstere. Physikalisch-optisch läßt sich wiederum augenfällig eine altersgebundene Zunahme der Eigen- und Abnahme der Formdoppelbrechung bei gleichzeitiger erheblicher Abnahme der Gesamtdoppelbrechung nachweisen. Die stärksten Veränderungen der Eigen- und Formdoppelbrechung zeigt das Sehnenkollagen; auch hier ist für die Eigendoppelbrechung eine Zunahme, für die Formdoppelbrechung eine Abnahme typisch. Die Gesamtdoppelbrechung, wie auch der Hydroxyprolingehalt zeigen keine signifikanten Veränderungen mit zunehmendem Alter. Lediglich der Hexosamingehalt des Sehnenkollagens nimmt mit dem Alter kontinuierlich ab.

Organ	Zusammenhang zwischen:	Korrelationskoeffizient
HERZ	Alter / Hypro	$r = + 0,0281$
	Alter / Hexa	$r = - 0,098$
	Alter / GD	$r = - 0,3911$
	+ Alter / ED	$r = + 0,9709 +$
	+ Alter / FD	$r = - 0,9718 +$
AORTA	+ Alter / Hypro	$r = + 0,4922 +$
	+ Alter / Hexa	$r = + 0,6454 +$
	+ Alter / GD	$r = - 0,9515 +$
	+ Alter / ED	$r = + 0,9398 +$
	+ Alter / FD	$r = - 0,9615 +$

Organ	Zusammenhang zwischen:	Korrelationskoeffizient
SEHNE	Alter / Hypro	$r = - 0,0412$
	+ Alter / Hexa	$r = - 0,9592 +$
	Alter / GD	$r = - 0,0945$
	+ Alter / ED	$r = + 0,9390 +$
	+ Alter / FD	$r = - 0,9397 +$

Tab. 6:

Biomorphotische Veränderungen der chemischen und physikalisch-optischen Meßgrößen in den drei untersuchten Organen. Die mit + gekennzeichneten Korrelationen zeigen eine stat. signifikante bzw. auffällige Zunahme (+) oder Abnahme (-) mit dem Alter.

Zu Abb. 10: Verhalten des Hydroxyprolingehaltes von Herz, Aorta und Sehne mit steigendem Alter.

- Hydroxyprolingehalt des Herzens bezogen auf 100 g Trockengewebe. Der Hydroxyprolingehalt bleibt während der untersuchten Dezennien annähernd konstant.
- Hydroxyprolingehalt der Aortenmedia bezogen auf 100 g Trockengewebe. Der Hydroxyprolingehalt steigt mit dem Alter von ca. 3,5 g % im 2. bis auf ca. 4,5 g % im 8. Dezennium an.
- Hydroxyprolingehalt der Achillessehne bezogen auf 100 g Trockengewebe. Der Hydroxyprolingehalt der Sehne bleibt vom 18. bis zum 85. Lebensjahr annähernd konstant.

x_R = Regressionsgerade

y_R = Korrelationsgerade

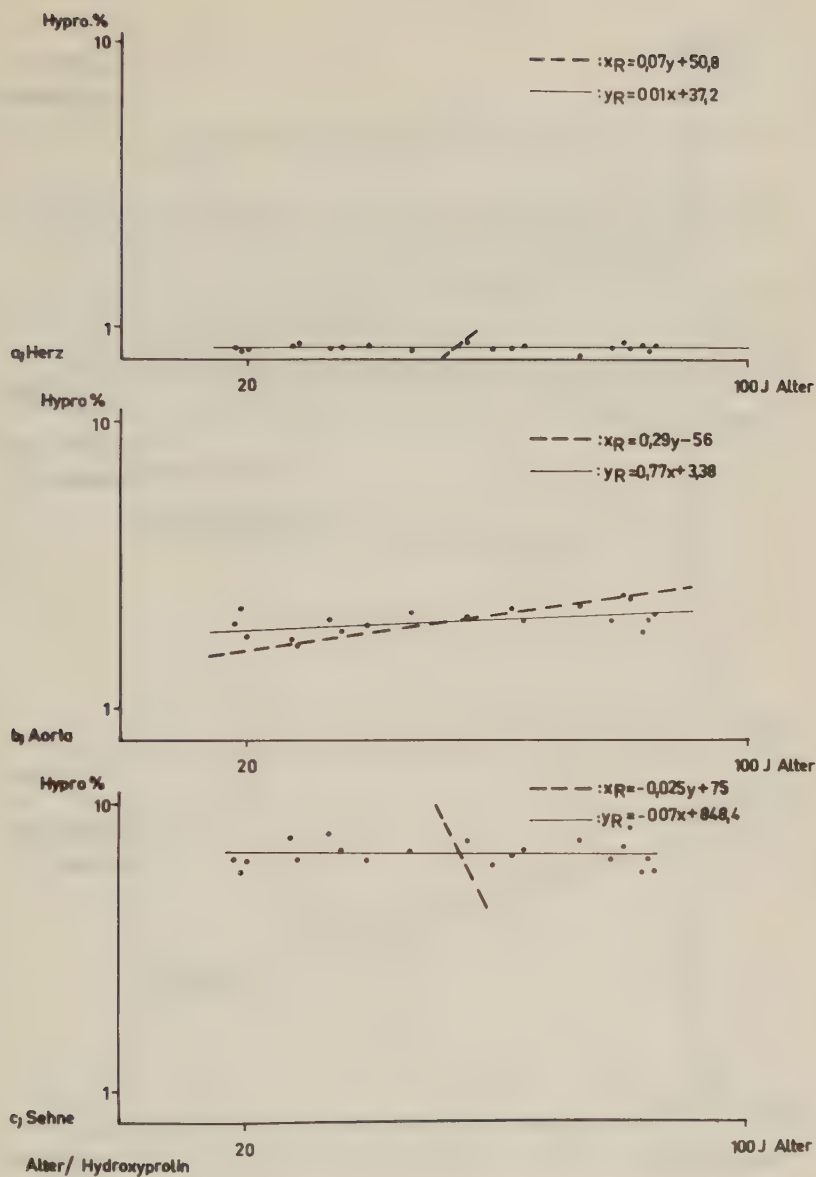


Abb. 10

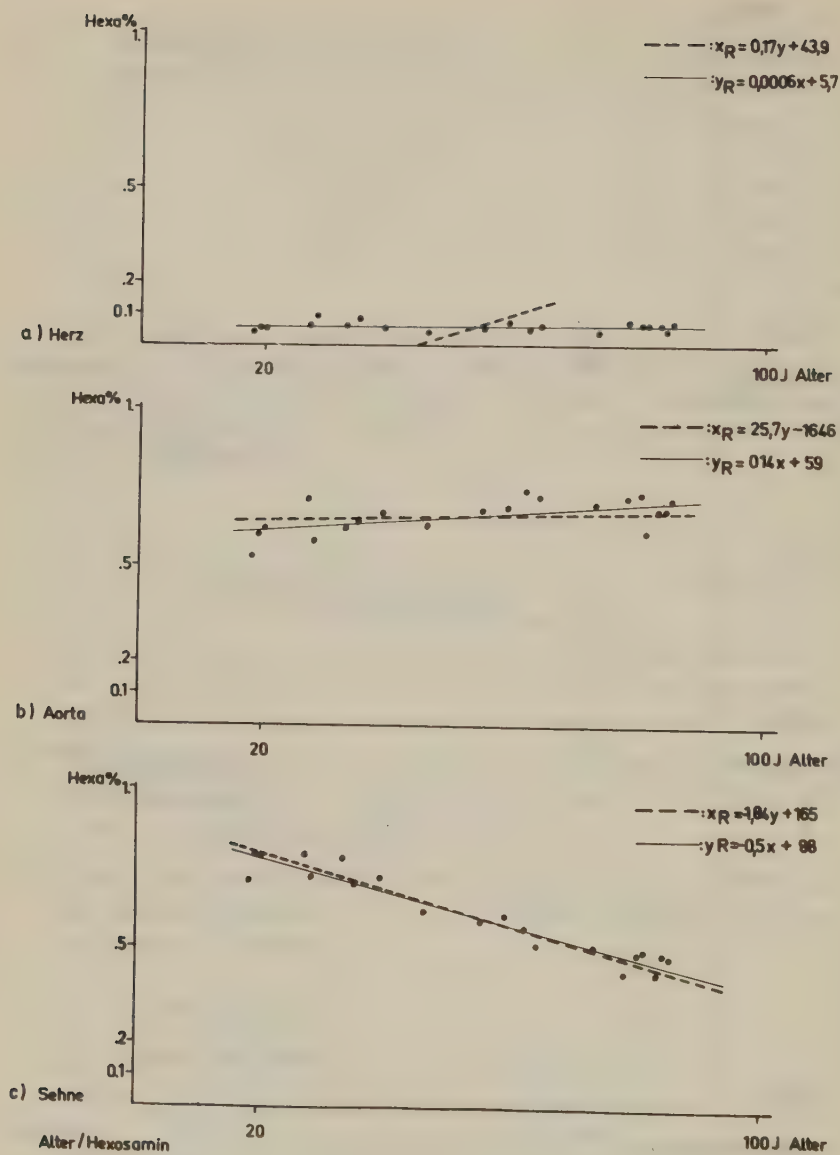


Abb. 11

Zu Abb. 11: Änderung des Hexosamingehaltes von Herz, Aorta und Sehne

- a) Der Hexosamingehalt des Herzens bezogen auf 100 g Trockengewebe bleibt während der untersuchten Dezennien nahezu konstant.
- b) In der Aortenmedia kommt es mit zunehmendem Alter zu einem mäßigen Anstieg des Hexosamingehaltes.
- c) Die Sehne zeigt mit zunehmendem Alter eine erhebliche Abnahme ihres Hexosamingehaltes von ca. 0,78 g% auf ca. 0,45 g %.

x_R = Regressionsgerade

y_R = Korrelationsgerade

Zu Abb. 12: Gesamtdoppelbrechung in Abhängigkeit vom Alter der kollagenen Bindegewebsfaser

- a) Die Kollagenfaser des Herzinterstitiums zeigt keine Änderung ihrer Gesamtdoppelbrechung während ihrer Biomorphose.
- b) In der Aortenmedia zeigen die kollagenen Fasern mit zunehmendem Alter eine geringgradige Abnahme ihrer Gesamtdoppelbrechung.
- c) Die Kollagenfasern der Achillessehne weisen während des ganzen Lebens eine weitgehend konstante, starke Gesamtdoppelbrechung auf.

x_R = Regressionsgerade

y_R = Korrelationsgerade

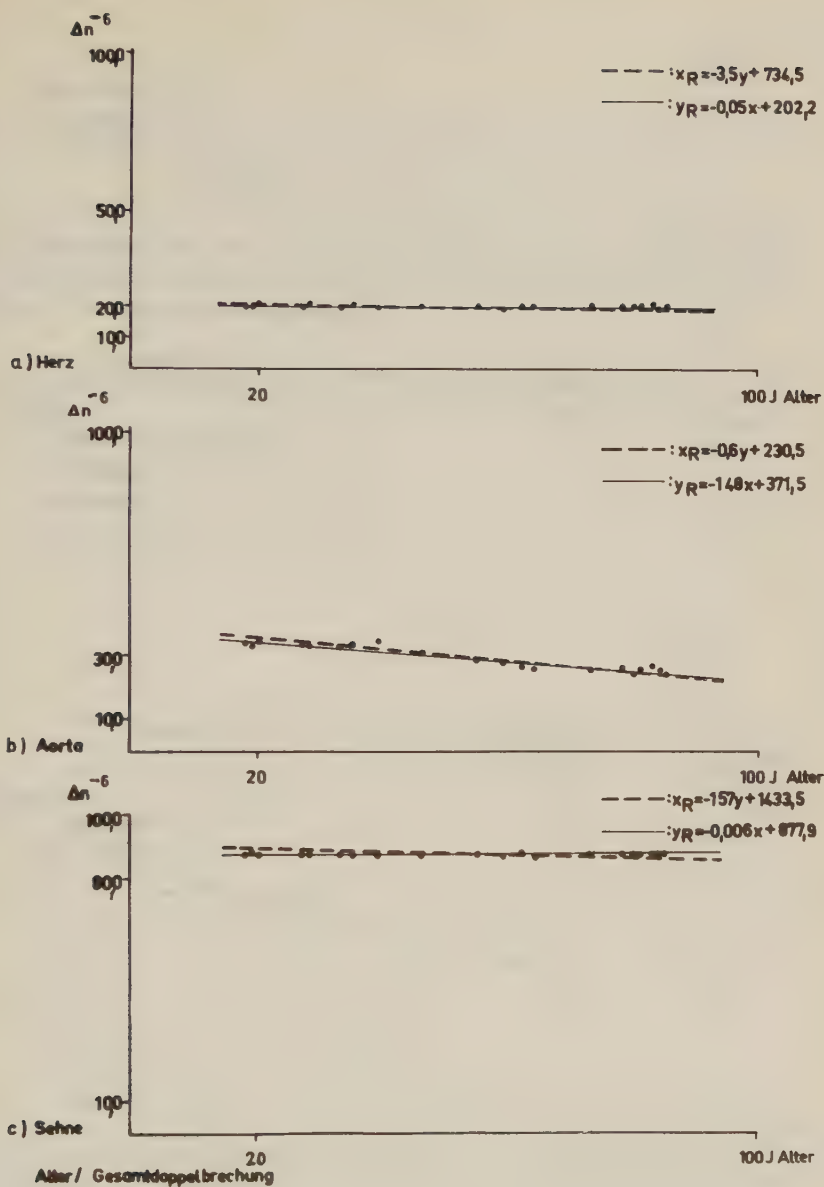


Abb. 12

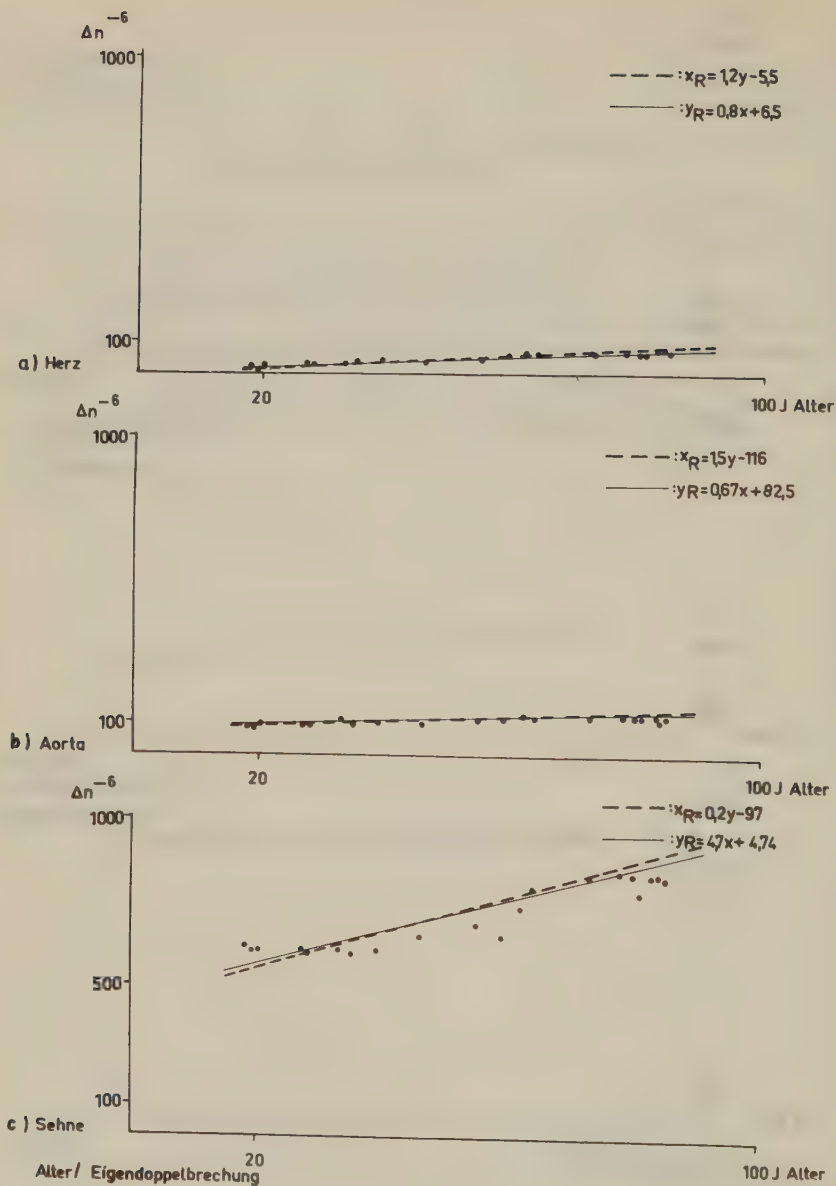


Abb. 13

Zu Abb. 13: Änderung der Eigendoppelbrechung der Kollagenfasern mit dem Alter

Die kollagenen Fasern des Herzbindegewebes (a), der Aortenmedia (b) und der Achillessehne (c) zeigen im Rahmen der Biomorphose eine deutliche Zunahme ihrer Eigendoppelbrechung.

x_R = Regressionsgerade

y_R = Korrelationsgerade

Zu Abb. 14: Änderung der Formdoppelbrechung der Kollagenfasern mit zunehmendem Alter

Im Herzinterstitium (a), in der Aortenmedia (b) und der Achillessehne (c) kommt es mit zunehmendem Alter zu einer erheblichen Abnahme der Formdoppelbrechung der kollagenen Bindegewebsfasern.

x_R = Regressionsgerade

y_R = Korrelationsgerade

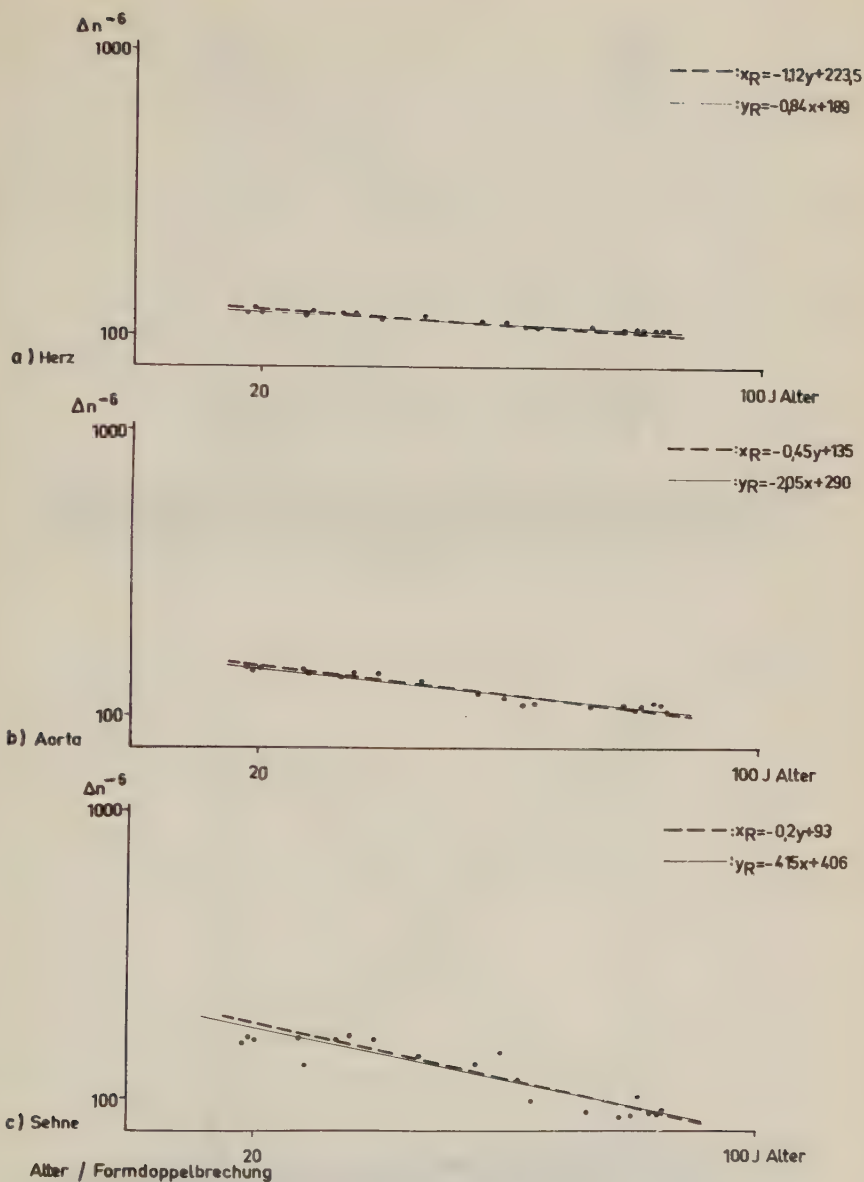


Abb. 14

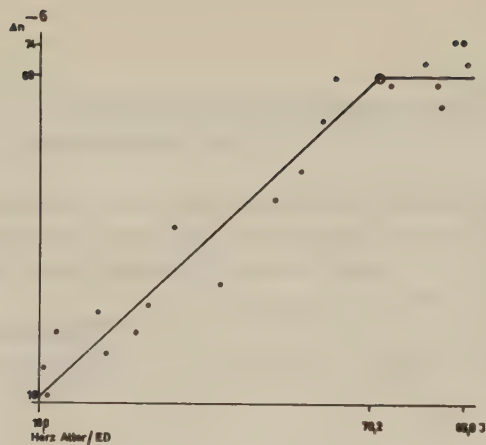


Abb.15: Änderung der Eigendoppelbrechung des Herzbindegewebes mit dem Alter. Anstieg vom 18. bis 70. Lebensjahr von $1,8 \times 10^{-5}$ auf $7,0 \times 10^{-5}$.

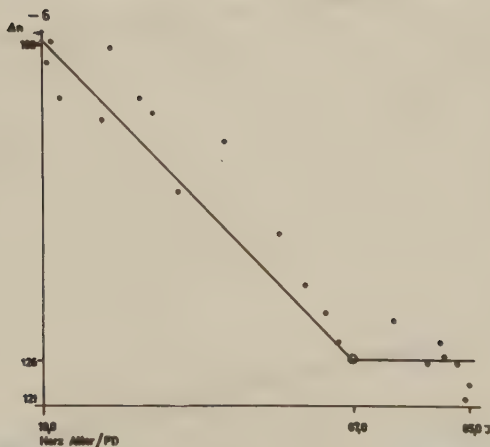


Abb.16: Formdoppelbrechung des Herzbindegewebes in Abhängigkeit vom Alter. Abfall vom 18. bis 67. Lebensjahr von $18,0 \times 10^{-5}$ auf $12,6 \times 10^{-5}$.

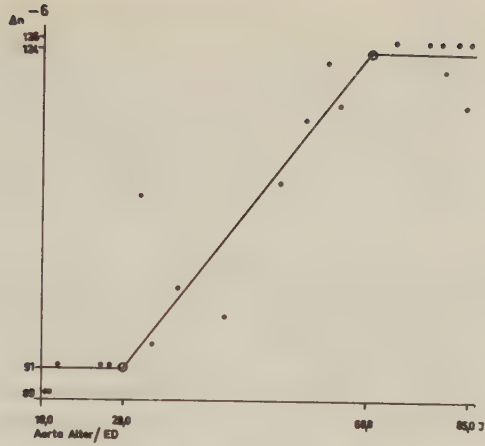


Abb.17: Eigendoppelbrechung des Aortenkolagens in Abhängigkeit vom Alter; vom 29. bis 68. Lebensjahr Anstieg von $9,1 \times 10^{-5}$ auf $12,5 \times 10^{-5}$.

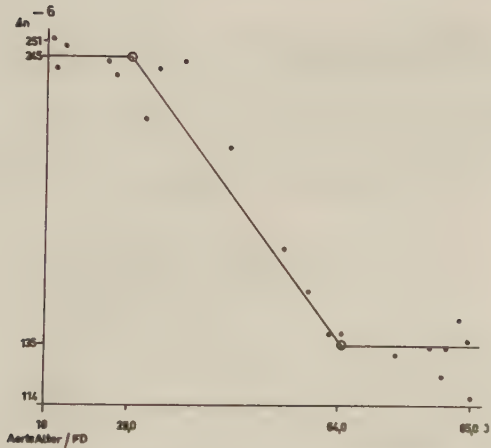


Abb.18: Formdoppelbrechung der Kollagenfasern der Aortenmedia; Abfall zwischen dem 29. und 64. Lebensjahr von $24,6 \times 10^{-5}$ auf $13,4 \times 10^{-5}$.

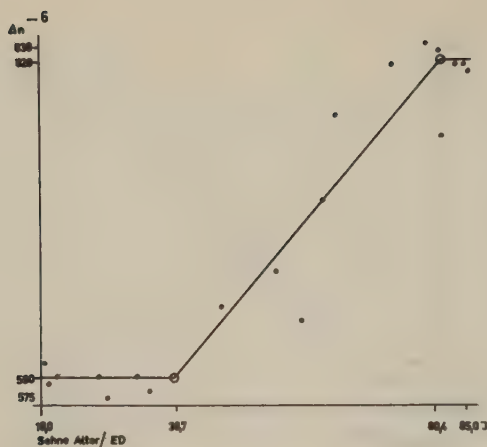


Abb.19: Änderung der Eigendoppelbrechung der Sehne mit dem Alter;Anstieg zwischen dem 39. und 81. Lebensjahr von $59,0 \times 10^{-5}$ auf $82,8 \times 10^{-5}$.

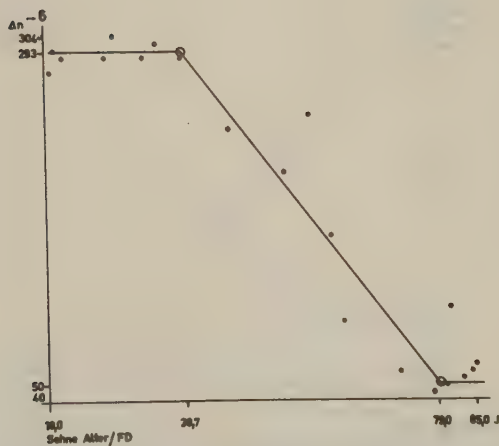


Abb.20: Formdoppelbrechung des Sehnenkollagens in Abhängigkeit vom Alter;Abfall vom 39. bis 79. Lebensjahr von $29,4 \times 10^{-5}$ auf $4,7 \times 10^{-5}$.

Formalgenetisch bedeutsame Korrelationen

Während die chemische Analyse die Organspezifität des kollagenen Bindegewebes deutlich unterstreicht, weisen die Ergebnisse der Strukturanalyse auf folgende für seine Biomorphose typischen Veränderungen hin, die durch die Abweichung der graphisch dargestellten Korrelationspunkte von einem linearen Zusammenhang der optischen Meßgrößen mit dem Alter formalgenetisch von besonderer Bedeutung sind (Abb.15-20):

Von einem charakteristischen, für jedes Organ spezifischen Niveau der Eigen- und Formdoppelbrechung kommt es zu einem von Organ zu Organ unterschiedlichen Zeitpunkt zu einer gleichmäßig fortschreitenden Zunahme der Eigen- und Abnahme der Formdoppelbrechung. Dieser Prozess findet wiederum zu einem für jedes Organ spezifischen, unterschiedlichen Zeitpunkt seinen Abschluß; an der morphologisch intakten Faser ist eine weitere Änderung der optischen Meßgrößen nur noch außerordentlich gering.

Die in den Graphiken Abb.15-20 angegebenen Umschlagspunkte sowie die Geradlinigkeit der Beziehungen sind nur symbolisch zu verstehen. Für eine genaue Analyse der Verlaufsform sind die Zahlen zu klein.

c) Ergebnisse zur Frage der Korrelation der bestimmten Meßgrößen von Organ zu Organ (Tab.7)

Die meisten der ca. 500 Korrelationspaare der 17 untersuchten Meßgrößen des kollagenen Bindegewebes zeigen eine deutliche Organspezifität.

Auf der Suche nach Meßgrößen, die für die quantitative Erfassung des Kollagens aller Organsysteme sowie seiner Biomorphose ausnahmslos geeignet erscheinen, bieten sich anhand signifikanter Korrelationspaare folgende Größen an:

- a) Eigendoppelbrechung
- b) Formdoppelbrechung
- c) Hexosamingehalt

Korrelation			Korrel. Koeffizient
ED	Herz	: ED Aorta	+ 0,9377
ED	Herz	: ED Sehne	+ 0,9385
ED	Aorta	: ED Sehne	+ 0,8925
FD	Herz	: FD Aorta	- 0,9538
FD	Herz	: FD Sehne	+ 0,9257
FD	Aorta	: FD Sehne	+ 0,9292
ED	Herz	: FD Aorta	- 0,9456
ED	Herz	: FD Sehne	- 0,9387
ED	Aorta	: FD Sehne	- 0,8923
ED	Herz	: Hexa Aorta	+ 0,7305
ED	Herz	: Hexa Sehne	- 0,9421
ED	Aorta	: Hexa Sehne	- 0,8873
FD	Herz	: Hexa Aorta	- 0,7158
FD	Herz	: Hexa Sehne	+ 0,9301
FD	Aorta	: Hexa Sehne	+ 0,9304

Tab. 7: Zusammenstellung der chemischen und polarisationsoptischen Meßgrößen, die in den untersuchten drei Organen untereinander korrelieren.

E. DISKUSSION

I. ZUSAMMENHANG ZWISCHEN CHEMISCHEN UND OPTISCHEN MESSGRÖSSEN

Das kollagene Bindegewebe zeigt mit den herkömmlichen lichtoptischen Methoden außer unspezifischen färberischen Nuancierungen keine Veränderungen, die eine verwertbare Zuordnung zum Alterungsprozeß zulassen. Im Gegensatz dazu geben polarisationsoptische und biochemische Befunde für sich allein einen tieferen und damit differenzierteren Einblick in die Faserfeinstruktur (BEAR, R.S., 1952; BUDDECKE, E., 1960; DYRBYE, M.O., 1959; GUSTAVSON, K.H., 1956; HARTMANN, F., 1958; KAPLAN, D. and MEYER, K., 1960; LERCH, H., 1951; LINDNER, J., 1960, 1963; RAMACHANDRAN, G.N., and KARTHA, G., 1954; DAHMEN, G., 1963; v. EBNER, V., 1894; HÖHLING, H.J., und DAHMEN, G., 1963; PROPST, A. und RATZENHOFER, M., 1954; ROLLHÄUSER, H., 1951 a, b, c, 1952; SCHMIDT, W.J., 1924). Die Problematik der Korrelation quantitativer chemisch-analytischer und strukturell-morphologischer Meßwerte liegt jedoch in der methodischen Schwierigkeit, äquivalente Größen zu erfassen.

Wie ausgeführt, gilt der Hydroxyprolin- und Hexosamingehalt des kollagenen Bindegewebes als quantitativ erfaßbares Äquivalent seines Gerüstprotein- bzw. seines Mucopolysaccharidanteiles, während das morphologische Substrat dieser beiden Hauptbestandteile in den ebenfalls quantitativ bestimmbaren Meßzahlen seiner Eigen- und Formdoppelbrechung gesehen wird. Dennoch ist es nach unseren Befunden, wie die nach Explizierung des Altersfaktors erhaltenen partiellen Korrelationskoeffizienten deutlich machen, nicht möglich, die sich scheinbar entsprechenden Meßzahlen gleichzusetzen. Selbst dort, wo eine signifikante bzw. auffällige Beziehung zwischen den untersuchten Größen

Hydroxyprolin	Aorta	:	Formdoppelbrechung	Aorta
Hexosamin	Sehne	:	Eigendoppelbrechung	Sehne
Hexosamin	Sehne	:	Formdoppelbrechung	Sehne

besteht, ist diese negativ, d.h., beide Meßwerte verhalten sich umgekehrt proportional. Daraus muß geschlossen werden, daß die untersuchten chemischen und optischen Faktoren primär verschiedenartige, in keinem direkten Zusammenhang stehende Meßwerte ein und desselben Substrates, des kollagenen Bindegewebes, darstellen.

Unter der Voraussetzung, daß der optischen Anisotropie eine strukturelle Anisometrie zugrunde liegt, ist die Eigendoppelbrechung der kollagenen Faser ein Maß für die submikroskopische Anisometrie (molekulare Ordnung) ihres Kollagenanteiles und um so größer, je geordneter dieser Anteil ist, je 'straffer' also die Mikrofibrillen in ihr ausgerichtet sind.

Durch die chemische Kollagenbestimmung mit Hilfe des Hydroxyprolin-gehaltes werden dagegen sämtliche Kollagenmoleküle quantitativ erfaßt, ganz gleich, ob es sich dabei um 'soeben' vom Fibröblasten gebildete und noch völlig unorientiert in der intermikrofibrillären Grundsubstanz liegende Tropokollagenmoleküle, um lose Aggregate oder um die aus kollagenem Gerüstprotein bestehenden Mikrofibrillen handelt.

Die Tropokollagenmoleküle sowie die nur locker assoziierten, leicht löslichen Kollagenaggregate, die im jungen Bindegewebe einen erheblichen Anteil bestreiten (VERZAR, F., 1965), tragen, da sie, statistisch betrachtet, weitgehend ungeordnet sind, nur minimal zur Eigendoppelbrechung der kollagenen Mikrofibrillen bei, fallen aber bei der Hydroxyprolinbestimmung erheblich ins Gewicht.

Läßt man also die altersabhängigen Strukturveränderungen der Kollagenfaser völlig außer acht, so ist es verständlich, daß zwischen den beiden sehr differente Fakten beschreibenden Größen Hydroxyprolin und Eigendoppelbrechung als Maß für die Gesamtmenge und die geordnete Menge keine positive Beziehung gefordert werden muß:

$$\begin{array}{ll} \text{Hydroxyprolin} & = \text{gesamte Kollagenmoleküle,} \\ \text{Eigendoppelbrechung} & = \text{geordnete Kollagenmoleküle.} \end{array}$$

In gleicher Weise wie für Kollagen und Eigendoppelbrechung läßt sich auch für eine Äquivalenz von Hexosamin und Formdoppelbrechung unter Eliminierung der Biomorphose kein Beweis erbringen. Dabei werden hier die Verhältnisse noch dadurch kompliziert, daß die Formdoppelbrechung eines Stäbchenmischkörpers, wie ihn die Kollagenfaser darstellt, von folgenden Faktoren abhängig ist.

1. Vom Verhältnis der Volumina der Stäbchen (Mikrofibrillen) und der Zwischensubstanz (Grundsubstanz); die Formdoppelbrechung ist um so größer, je mehr sich dieses Verhältnis dem Wert 1 nähert.
2. Von der Differenz der Brechungsindices von Stäbchen und Zwischensubstanz, zu der sie direkt proportional ist.

Der Brechungsindex der Zwischensubstanz ist wiederum, da es sich um hochpolymere Substanzen handelt, nach Richtungen unterschiedlich; die Zwischensubstanz zeigt also selbst optische Aktivität. Für diese gilt wieder das Axiom der strukturellen Anisometrie, die mikroskopisch oder submikroskopisch sein kann. Änderungen der amikroskopischen, molekularen Anisometrie würde einer Änderung der Bausteine der Zwischensubstanz entsprechen - Vermehrung oder Verminderung der Gesamtmenge der geordneten asymmetrischen C-Atome -, Änderungen der submikroskopischen Anisometrie einem Wandel in ihrem Polymerisationsgrad. Vorgänge der ersten Art sind für die Biomorphose durch die biochemische Analyse nachgewiesen worden (ANGEVINE, D. M., 1950; MEYER, K. und Mitarb., 1956; KAPLAN, D. and MEYER, K., 1959, 1960; KUHN, R. und LEPPELMANN, H. J., 1958), während Änderungen des Polymerisationsgrades der Zwischensubstanzen im Rahmen degenerativer Prozesse des Bindegewebes bekannt geworden sind (HÖHLING, H. J. und DAHMEN, G., 1963; SCHOTT, H. J. und DENKHAUS, W., 1966; DENKHAUS, W. und SCHOTT, H. J., 1966).

II. ALTERSABHÄNGIGE VERÄNDERUNGEN DER UNTERSUCHTEN MESSGRÖSSEN

Unsere Ergebnisse am kollagenen Bindegewebe von Herz, Aorta und Sehne zeigen in der Biomorphose ein außerordentlich differenziertes, organspezifisches Verhalten (Tab. 6, Abb. 9-23).

Aorta: Eine lineare Beziehung zwischen allen von uns untersuchten Meßgrößen und dem Alter konnte nur für die kollagenen Fasern der Aortenmedia nachgewiesen werden: Mit zunehmendem Alter kommt es im kollagenen Bindegewebe der Aorta zu einem

1. Anstieg des HP-Gehaltes
2. Anstieg des HA-Gehaltes
3. Abnahme der GD
4. Zunahme der ED
5. Abnahme der FD

Ferner ergeben sich unter Berücksichtigung des Alters Differenzen zwischen den totalen und partiellen Korrelationskoeffizienten folgender Korrelationspaare:

- a. $HP_A : ED_A = \text{pos. proportional}$
- b. $HP_A : FD_A = \text{neg. proportional}$

- c. $HA_A : ED_A = \text{pos. proportional}$
 d. $HA_A : FD_A = \text{neg. proportional}$

Es nimmt also einmal der Hydroxyprolingehalt und damit die Anzahl der Kollageneinheiten pro Gramm Trockengewebe zu. Darüber hinaus wird das Verhältnis Hydroxyprolin/Eigendoppelbrechung positiv proportional; steigt also der Hydroxyprolingehalt, so steigt auch die Eigendoppelbrechung und umgekehrt. Eine solche lineare Verknüpfung der beiden Größen ist nur möglich, wenn der mit der Hydroxyprolinmethode bestimmte Anteil des kollagenen Bindegewebes dem anhand seiner Eigendoppelbrechung meßbaren entspricht. Es muß demzufolge der weitaus größte Anteil der Kollagenmoleküle in Form hoch orientierter und dadurch optisch aktiver Mikrofibrillen vorliegen.

Der Einfluß des Alters auf die Korrelation von Hydroxyprolin_{Aorta} und Eigendoppelbrechung_{Aorta} ist also folgender: Das primär weitgehend ungeordnete, nur locker gebundene, nicht funktionell belastete Kollagen, welches in seiner Gesamtheit mit der HP-Methode quantitativ meßbar ist, aber noch keinen wesentlichen Beitrag zur Eigendoppelbrechung liefert, wird bis zur Höhe des Durchschnittsalters des untersuchten Kollektivs (53, 4 J.) fast vollständig in hoch geordnetes, kollagenes Gerüstprotein (Mikrofibrillen) umgewandelt.

Damit kann mit Hilfe der Varianzanalyse aufgrund einfacher optischer und chemischer Daten die von F. VERZAR (1965) in zahlreichen Untersuchungen negativ - durch Nachweis abnehmender Mengen leicht löslichen Kollagens - und durch die Röntgeninterferometrie nahegelegte Theorie einer mit dem Alter zunehmenden Vernetzung und Verfestigung des Kollagens, der Mikrofibrillen, für die kollagenen Fasern der Aortenmedia des Menschen positiv bestätigt werden (GROSS, J., 1950; 1952; HARTMANN, F., 1959; HÖRMANN, H., 1962; ROLLHÄUSER, H., 1952).

Von besonderer Bedeutung und weitgehend spezifisch für die Biomorphose des Aortenkollagens ist das Verhalten der durch ihren Hexosamingehalt gekennzeichneten Mucopolysaccharide der Fasergrundsubstanz. Die direkte Proportionalität von Hexosamingehalt und Eigendoppelbrechung in Zusammenhang mit dem Alter lassen über das Verhalten der Mucopolysaccharide während der Biomorphose folgende Schlüsse zu:

Es kann angenommen werden, daß ein erheblicher Anteil der durch Hexosamin gekennzeichneten Mucopolysaccharide im Laufe der Biomorphose fest in den mikrofibrillären Proteinkomplex der Aorten-

media eingebaut wird und auf diese Weise dessen Eigendoppelbrechung verstärkt: Die vermehrte Bildung von Zuckerbindungen (HÖRMANN, H., 1960, 1962) könnte eine Erklärung dafür sein.

Dazu parallel kann eine deutliche Abnahme der Formdoppelbrechung nachgewiesen werden, während der absolute Gehalt an Hexosamin signifikant ansteigt; der Hexosamingehalt und die Formdoppelbrechung der Aorta werden darüber hinaus negativ proportional gefunden. Für die kollagene Faser der Aortenmedia, bei welcher der Anteil der Grundsubstanz an der Gesamtmenge nur einige Prozent beträgt, kann eine Verminderung der Formdoppelbrechung bei absoluter Vermehrung der Mucopolysaccharidkomponente nicht auf einer Vergrößerung der Abweichung des gegenseitigen Mengenverhältnisses von 1 zurückgeführt werden, so daß zur Klärung des Befundes nur eine Verminderung der Differenz der Brechzahlen der beiden Komponenten des Stäbchen-Mischkörpers angenommen werden darf. Eine Angleichung der beiden Brechzahlen kann auf zweierlei Weise zustande kommen:

1. Durch Abnahme der Brechzahl der 'Stäbchen', also der Mikrofibrillen, oder
2. durch Zunahme der Brechzahl der Zwischensubstanz, der Polyanionen der Fasergrundsubstanz.

Da anhand unserer Ergebnisse ein Anstieg der mikrofibrillär bedingten Eigendoppelbrechung mit dem Alter erfolgt, muß die nachgewiesene Abnahme der Formdoppelbrechung durch Angleichung der beiden Brechzahlen allein auf eine Zunahme der Brechzahl der Zwischensubstanz zurückgeführt werden. Das bedeutet, daß der Prozeß der zunehmenden Straffung der Textur, der stärkeren Orientierung der Hochpolymeren und der Quervernetzung nicht allein auf den Proteinanteil der Kollagenfaser beschränkt ist, sondern in weit stärkerem Maß die Polyanionen der Kittsubstanz betrifft.

Parallel zu dieser Hyperpolymerisation der intermikrofibrillären Kittsubstanz geht dann die Vermehrung der intramolekularen Bindungen - cross links - des kollagenen Eiweißkörpers.

Aufgrund der von NEMETH-CSOKA mitgeteilten Befunde über den Einfluß verschieden polymerer Chondroitinschwefelsäuren sowie unterschiedlicher Mischungen von Mucopolysacchariden und Plasmaproteinen auf Fällung und submikroskopische Struktur von Kollagenfasern wird die Vermutung nahegelegt, in diesem Prozeß der Hyperpolymerisation der Mucopolysaccharid- und nicht-kollagenen Eiweiß-Komplexe der Fasergrundsubstanz eine wesentliche Voraus-

setzung für die zunehmende Orientierung und Vernetzung des Gerüstproteins zu sehen (NEMETH-CSOKA, M., 1960, 1961, 1963, 1964, 1965).

Sehne: Ein genau entgegengesetztes Verhalten zeigen die kollagenen Fasern der Sehne. Hier nimmt der durch Hexosamin nachweisbare Gehalt an Kittsubstanz mit dem Alter signifikant ab. Aus diesem Grunde ist es allein anhand unserer Untersuchungen nicht möglich, zu entscheiden, auf welche der beiden möglichen Veränderungen in der submikroskopischen Struktur der Faser die Abnahme der Formdoppelbrechung der Sehne zurückzuführen ist.

Aufgrund der Zunahme seiner Eigendoppelbrechung weist das kollagene Gerüstprotein jedoch genau wie in der Aorta die für seine Alterung typische Vernetzung und Orientierung der submikroskopischen Textur seiner Makromoleküle auf. Durch ROLLHÄUSER (1951, 1952), der die Eigendoppelbrechung der alternden Sehne geprüft hat, finden wir eine Bestätigung unserer Ergebnisse.

Ein Einbau von hexosaminhaltigen Mucopolysacchariden in die durch ihre Eigendoppelbrechung quantitativ erfaßbaren Mikrofibrillen läßt sich bei diesem Bindegewebe nicht nachweisen; ebensowenig kommt es zu einer vermehrten Bildung von Kollagenmolekülen.

Herz: Das Bindegewebe des Herzens nimmt bezüglich seiner organotopologischen Biomorphose eine Mittelstellung zwischen den beiden im Verhalten ihrer Grundsubstanz verschiedenen Geweben, Aorta und Sehne, ein. Hier sind die quantitativen Veränderungen der Eigen- und Formdoppelbrechung auf die für das Aortenbindegewebe charakteristischen molekularstrukturellen Vorgänge zurückzuführen, da es nicht zu einer Verminderung des Hydroxyprolin und/oder Hexosamingehaltes kommt. Eine mit dem Alter zunehmende Produktion, bzw. ein verminderter Abbau dieser Stoffe kann allerdings nicht nachgewiesen werden, so daß die Biomorphose des Herzbindegewebes ihr Substrat allein in einer molekularen Umstrukturierung sowohl der Zwischensubstanz als auch des Kollagen-eiweißes findet.

III. FORMALE GENESE DER BIOMORPHOSE DES KOLLAGENEN BINDEGEWEBES

Obwohl wir in der Biomorphose von Aorta, Herz und Sehne im submikroskopischen Bereich ein hochgradig organspezifisches Verhalten aufzeigen konnten, scheint sich trotzdem ein formalgenetisches Grundprinzip für die Alterswandlungen der Kollagenfaser anzudeuten. Die mit der Änderung der Eigen- und Formdoppelbrechung einhergehende molekulare Umstrukturierung könnte, wie aus Abb. 25-30 zu erkennen ist, für das kollagene Bindegewebe der untersuchten Organe folgende Stufen durchlaufen:

1. Ausreifungsperiode (Sie ist in der vorliegenden Untersuchung aufgrund der Fragestellung nicht erfaßt.)
2. Periode der juvenilen Eupolymerität. Grundsubstanz und Gerüstprotein zeigen für einen für jedes Organ spezifischen Zeitraum einen relativ konstanten Polymerisationsgrad, dessen Substrat eine weitgehende Konstanz der Eigen- und Formdoppelbrechung ist. Das Niveau der Polymerität (Polymerisationsgrad) gemessen an Eigen- und Formdoppelbrechung ist wiederum organspezifisch. Für unser Kollektiv wurde gefunden:

1. Herz : ED $1,80 \cdot 10^{-5}$, FD $18,0 \cdot 10^{-5}$

2. Aorta : ED $9,1 \cdot 10^{-5}$, FD $24,6 \cdot 10^{-5}$

3. Sehne : ED $59,0 \cdot 10^{-5}$, FD $29,4 \cdot 10^{-5}$

3. Juveniler Knick. Von diesem Zeitpunkt zeigt die Eigendoppelbrechung eine deutliche Zunahme, die Formdoppelbrechung eine deutliche Abnahme; er liegt zeitlich für unser Untersuchungsmaterial für

1. Herz bei ca. 18 Jahren ⁺

2. Aorta bei 29 Jahren

3. Sehne bei 39 Jahren.

Mit dem juvenilen Knick geht der Zustand der juvenilen Eupolymerität über in die

4. Periode der adulten Metapolymerität. Sie ist gekennzeichnet durch eine kontinuierliche Abnahme der Formdoppelbrechung und eine zeitlich verzögerte konstante Zunahme der Eigendoppelbrechung, die auf eine kontinuierlich fortschreitende Vernetzung und Verfestigung (Hyperpolymerisation) primär der Makromoleküle der Grundsubstanz und sekundär der Kollagenmoleküle der Mikrofibrillen hinweist.
5. Seniler Knick. Von diesem Zeitpunkt an nähert sich der durch die optischen Meßgrößen charakterisierte Polymerisationsgrad von Grundsubstanz und Mikrofibrillen einem nunmehr konstanten Endwert, der für die Formdoppelbrechung⁺) an unserem Untersuchungsgut stets 1-2 Jahre

⁺ Durch das Mindestalter von 18 J. in der vorliegenden Untersuchung nicht eindeutig erfaßt (Abb. 40 und 41).

früher erreicht wird, als für die Eigendoppelbrechung(*)er liegt für das

1. Herz bei 67⁺ - 70^{*} Jahren
 2. Aorta bei 64⁺ - 68^{*} Jahren
 3. Sehne bei 79⁺ - 81^{*} Jahren
6. Periode der senilen Hyperpolymerität. Sie beginnt mit dem senilen Knick und ist gekennzeichnet durch eine weitgehende Konstanz des Polymerisationsgrades von Kittsubstanz und kollagenem Gerüstprotein. Ihr Niveau liegt, gemessen an der Eigen- und Formdoppelbrechung, bei

1. Herz : ED 7,0 10^{-5} , FD 12,7 10^{-5}
2. Aorta : ED 12,5 10^{-5} , FD 13,4 10^{-5}
3. Sehne : ED 82,8 10^{-5} , FD 4,7 10^{-5}

Die senile Hyperpolymerisation würde demnach den Grenzwert des physiologisch möglichen Polymerisationsgrades von Grundsubstanz und Mikrofibrillen darstellen; die Faser ist strukturell intakt.

Ein weiteres gleichsinniges Fortschreiten der intra- und intermolekularen Bindungen in der Grundsubstanz und dem Gerüstprotein würde durch eine qualitative Veränderung der Grundsubstanzmatrix zur amyloiden Altersdegeneration des Polyanion-Proteinkomplexes der kollagenen Faser führen, wie sie sich aufgrund ihrer chemischen Biomorphose - Zunahme der Mucopolysaccharide - besonders eindrucksvoll an der Kollagenfaser der Aortenmedia nachweisen läßt: Dort ist die Alterung verbunden mit einer Zunahme der Metachromasie der mucoïd umgewandelten Grundsubstanz (SCHULTZ, A., 1922); dieser Wandel der kollagenen Faser vollzieht sich nach dem gleichen formalgenetischen Prinzip wie bei der eigentlichen Amyloidose (SCHOTT, H.J., 1966; SCHOTT, H.J. und MÖHN, R., 1966; SCHOTT, H.J. und DENKHAUS, W. in Vorbereitung).

Kennzeichen dieser Gemeinsamkeit ist die orientierte Farbstoffanlagerung an die submikroskopische, anisotrope Strukturgrundlage, die sowohl den amyloiden als auch den metachromatischen Gewebeelementen eigen ist - (ROMHANYI, G., 1956, 1963; SCHMIDT, W.J., 1957; MISSMAHL, H.P., 1955; DIEZEL, P.B., und PFLEIDERER jr., A., 1959; SCHOTT, H.J., 1966) - und die sich in folgender Weise erklären läßt:

Die im Alter von Fibroblasten vermehrt gebildeten oder vermindert abgebauten Mucopolysaccharide führen zunächst zu einer Lockerung der Gerüstproteintextur der Aortenmedia; die sodann erfolgende Hyperpolymerisation dieser Substanz bewirkt durch ihre Ausrichtung und Straffung, die mit einer Dehy-

dratation und Volumenverminderung einhergeht, eine Lockerung in der Textur der Grundsubstanz, die damit eine orientierte Anlagerung von Farbstoffteilen an lineare Polyanionen zuließe.

Ähnliche Befunde konnten am interstitiellen Bindegewebe des Herzens, der Koronarien, der Niere, der Schilddrüse und des Inselorgans des Pankreas erhoben werden (SCHWARTZ, Ph., 1965, 1966; SCHOTT, H. J., 1966).

IV. ZUSAMMENHANG DER MESSGRÖSSEN DER UNTERSUCHTEN ORGANE UNTEREINANDER

Anhand des Zusammenhanges der Meßgrößen der untersuchten drei Organe untereinander (Tab. 7) ergibt sich, daß allein folgende Meßwerte in allen Organen nachweisbare Beziehungen zueinander aufweisen:

1. Eigendoppelbrechung
2. Formdoppelbrechung
3. Hexosamingehalt

Damit wird die Bedeutung der Veränderung in der submikroskopischen Struktur des Bindegewebes als Ausdruck seiner Biomorphose für die untersuchten Organe bestätigt. Ferner scheint den Mucopolysacchariden im Prozeß der Kollagenalterung eine wesentliche Rolle zuzukommen, die im einzelnen jedoch noch unbekannt ist.

V. ÜBERLEGUNGEN ZUR KINETIK DER BIOMORPHOSE DES KOLLAGENEN BINDEGEWEBES

Wenngleich die theoretischen Vorstellungen über die Alterung des Gesamtorganismus voneinander sehr abweichen, so könnte man die Biomorphose des kollagenen Bindegewebes anhand der ermittelten Meßwerte den kinetischen Überlegungen von STREHLER (1962) in folgender Weise zuordnen:

Nach der Ausreifungsperiode verweilt die Kollagenfaser in einem Fließgleichgewicht (juveniles Fließgleichgewicht), das ihren Polymerisationsgrad auf der Stufe der juvenilen Eupolymerität erhält. Dieser Zustand wird dadurch aufrecht erhalten, daß durch aktive Stoffwechselprozesse der Fibroblasten eine dauernde Abführung der im inneren System (kollagene Faser) erzeugten Entropie (Absättigung der Radikale des fibrillären Protein-Mucopolysaccharid-Komplexes) an das Gesamtsystem erfolgt.

Mit der Abnahme der Stoffwechselaktivität der Fibroblasten bzw. ihrer Umwandlung in Ruheformen, wird dieses Fließgleichgewicht überlagert von der

dem 2ten Hauptsatz der Thermodynamik gehorchenden Absättigung intra- und intermolekularer aktiver Gruppen, die zu einer zunehmenden Vernetzung (cross links) innerhalb der Bindegewebsfaser führen (Periode der adulten Metapolymerität). In diesen Prozeß werden mit zunehmendem Alter immer mehr Fasern einbezogen, so lange, bis sich mit dem "senilen Knick" ein neuer Gleichgewichtszustand herausbildet, der einen physiologischen Grenzwert darstellt (Periode der senilen Hyperpolymerität); in ihm reicht die nunmehr erheblich reduzierte Stoffwechselaktivität der Bindegewebszellen in ihrer Gesamtheit gerade aus, um die Rest-Entropieerzeugung des inneren Systems an das Gesamtsystem abzuführen.

Bis zu diesem physiologischen Grenzwert läßt der altersbedingte Verlauf der an Eigen- und Formdoppelbrechung gemessenen Kurve der Polymerität des kollagenen Bindegewebes eine auffallende Ähnlichkeit mit der von MAKEHAM modifizierten GOMBERTZ-Funktion für die Absterberate (R_m) vieler Tierpopulationen

$$R_m = R_o e^{at} \cdot A.$$

erkennen.

Hierin ist t der Zeitfaktor, R_o die hypothetische Mortalitätsrate zur Zeit Null, a und A Systemkonstanten (GOMBERTZ, B., 1825).

In der Aortenmedia zeigen die Kollagenfasern nach dem senilen Knick ein Fortschreiten der Hyperpolymerisation mit dem Auftreten degenerativer Veränderungen (Altersamyloid); sein quantitatives Verhalten würde einer weiteren Zunahme der Entropie des inneren Systems über den senilen Knick hinaus entsprechen und in einer "Verlängerung" der Kurve der Metapolymerität (Abb. 15 bis 20) seinen Ausdruck finden. Ein solcher Kurvenverlauf würde sich am ehesten durch die Strehler-Mildvan-Funktion erfassen lassen, die davon ausgeht, daß die Absterberate von Zellen proportional zur Frequenz der Einwirkung von tödlichen Belastungen ist und für die Zellen einen linearen Funktionsverlust mit dem Alter annimmt (STREHLER, B. L., 1962).

F. ZUSAMMENFASSUNG

In morphologisch unverändertem Gewebe aus der Vorderwand des linken Ventrikels, der Aortenmedia am Übergang vom Arcus in die Aorta descendens und der linken Achillessehne von 20 Unfalltoten im Alter von 18 bis 85 Jahren wurde photorimetrisch der Hydroxyprolingehalt (STEGEMANN, 1958) und der Hexosamingehalt (SOBEL und Mitarbeiter, 1958 a) bestimmt und auf 100 g Trockengewebe bezogen. Parallel dazu wurde die Gesamt-, Eigen- und Formdoppelbrechung der kollagenen Bindegewebsfasern in den genannten Geweben an Gefrierschnitten mit Hilfe des Imbibitionsverfahrens (AMBRONN, 1916) und der Kompensationsmethode (RINNE-BEREK, 1953) polarisationsmikroskopisch gemessen. Die Meßwerte sowie das Alter in Jahren und das Geschlecht wurden als Variable in eine Korrelationsmatrix eingeführt und in paarweisem Vergleich jede Größe zu jeder graphisch in Beziehung gesetzt. Als rechnerisches Maß für ihren linearen Zusammenhang wurde der BRAVAIS-PEARSONsche Korrelationskoeffizient bestimmt und auf Signifikanz geprüft. In zwei weiteren Korrelationsmatrizen wurden die Variablen nach Geschlechtern getrennt auf Korrelation geprüft und die Korrelationskoeffizienten miteinander verglichen. Die 793 Korrelationspaare wurden unter den Gesichtspunkten der Geschlechtsspezifität, der Äquivalenz von chemischer Zusammensetzung und optischer Eigenschaft, der Altersveränderung der Meßwerte und der Korrelation der Meßwerte von Organ zu Organ ausgewertet. Die Untersuchungen ergaben, daß keine geschlechtsspezifischen Unterschiede nachweisbar sind. Ferner besteht kein positiver Zusammenhang zwischen dem Hydroxyprolin- bzw. Hexosamingehalt eines Gewebes und der Stärke der Eigen- bzw. Formdoppelbrechung seiner Kollagenfasern. Der Oxyprolingehalt muß vielmehr als Maß für die Gesamtmenge des in ihm vorhandenen Kollagens, die Eigendoppelbrechung dagegen als Maß für die micellare Ordnung des Kollagens angesehen werden. Die Altersveränderungen der Kollagenfasern sind organspezifisch. Aortenmedia: Der Grad der micellaren Ordnung des kollagenen Gerüstproteins und der Polyanionen der intermikrofibrillären Grundsubstanz nimmt zu. Außerdem ist ein Einbau hexosaminhaltiger Polysaccharide in die Micellen des Gerüstproteins nachweisbar. Sehne: Vernetzung und zunehmende Straffung der submikroskopischen Textur des Kollagens bei Abnahme der hexosaminhaltigen Grundsubstanz. Herzbindegewebe: Vermehrung der micellar geordneten Faserproteine; die Gesamtmenge an Kollageneiweiß und

hexosaminhaltiger Grundsubstanz bleibt konstant. Ein gleichsinniges Verhalten in allen Organen und zu allen Altersstufen zeigen die Kollagenfasern nur in der Stärke ihrer Eigen- und Formdoppelbrechung und dem Hexosamingehalt ihrer Grundsubstanz. Die Bedeutung der Befunde für die formale Genese der Biomorphose der Kollagenfaser wird diskutiert.

G. LITERATUR

1. AMBRONN, H.: Über das Zusammenwirken von Stäbchen- und Eigendoppelbrechung (I). Koll. Ztschr. 18: 90-142 (1916a)
2. Über das Zusammenwirken von Stäbchen- und Eigendoppelbrechung (II). Koll. Ztschr. 18: 273-297 (1916b)
3. Über das Zusammenwirken von Stäbchen- und Eigendoppelbrechung (III). Koll. Ztschr. 20: 173-197 (1917)
4. AMBRONN, H. und FREY, A.: Das Polarisationsmikroskop. Leipzig (1926)
5. ANDERSON, B. and ODELL, T. T. jr: Changes in rat cartilage mucopolysaccharide with age and radiation. J. Geront. 15: 249-242 (1960)
6. ANGEVINE, D. M. and SEASTONE, C. V.: Local cellular responses in experimental hypersensitivity. Am. J. Path. 26: 1011-1018 (1950)
7. ANGRIST, A.: Aging Heart Valves and a Unitary Pathological Hypothesis for Sclerosis. J. Geront. 19, 1-4: 135-143 (1964)
8. AXELROD, A. E. and MARTIN, C. J.: Biochemical Changes in Thermally-Injured Cutaneous Tissue, Susceptibility to Proteolytic Enzymes, and Extractability of Collagen. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 83: 463-468 (1953)
9. BANGA, J.: Thermal contraction of collagen and its dissolution with elastase. Nature 172: 1099 (1953)
10. Der Effekt der schwachen organischen Säuren auf die Rattenschwanz-Kollagenfaser von jungen und alten Tieren. Gerontologia 1: 325-346 (1956)
11. BANGA, J., BALÖ, J. and SZABO, D.: Metacollagen as the apparent elastin. J. Geront. 11: 242-250 (1956)
12. Isolation of neutral heteropolysaccharide containing mucoprotein from bovine achilles tendon with the aid of collagen mucoproteinase. Biochem. J. 74: 383-387 (1960)
13. BANFIELD, W. G.: Hormons and Connectiv Tissue in: Asboe-Hausen: Connectiv Tissue. Munksgaard, Kopenhagen (1954)
14. Age changes in the swelling capacity of the human achilles tendon. J. Geront. 11: 372-382 (1956)
15. BEAR, R. S. and SCHMITT, F. O.: The Optics of Nerve Myelin. J. Optic. Soc. America 26: 206-212 (1936)
16. BEAR, R. S.: X-ray diffraction studies on collagen fibres. I. The large fibre axis period of collagen. J. Amer. chom. Soc. 66: 1297-1305 (1944)

17. BEAR, R. S.: The structure of collagen fibrils.
Advances Prot.Chem. 7: 69-160 (1952)
18. BEAR, R. S. and MORGAN, R. S.: The composition of bands and inter-bands of dispersed states.
In: Fibrous proteins and their biological significance.
S. E. B. Symposia IX: 97-114 London: Blackwell (1957)
19. BENNINGHOFF, A.: Blutgefäße und Herz. In: Handbuch d. mikr. Anat. des Menschen, herausgg. v. W. v. MÜLLENDORFF, Bd. 6, 1. Berlin (1930)
20. BERTELSEN, S.: Hexosamine, hydroxyproline and calcium levels in the tunica media of the human aorta and pulmonary artery.
Acta pharmac. tox. 18: 359-361 (1961a)
21. Alterations in Human Aorta and Pulmonary Artery with Age.
Acta path. microbiol. scand. 51: 206-228 (1961 b)
22. BERTELSEN, S. and JENSEN, C. E.: Histochemical Studies on Human Aortic Tissue. Acta path. microbiol. scand. 48, 4: 305-315 (1960)
23. BJORKSTEN, J.: Aging, primary mechanism.
Gerontologia 8: 179-192 (1963)
24. BLOCK, R. J. and BOLLING, D.: The determination of aminoacids.
Cloth, Pp. 396, Thomas, Minneapolis (1945)
25. BONDAREFF, W.: Submicroscopic morphology of connective tissue ground substance with particular regard to fibrillogenesis and aging.
Gerontologia 1: 222-234 (1957)
26. BOSTRÖM, H. and JORPES, E.: Metabolic exchange of the sulphate group in mucopoly-saccharides.
Proc. Biochem. Soc. Lond. Annual Generalmeeting 27, Mar. 53.
Biochem. J. 54: XIII (1953)
27. BOURNE, G. H.: General aspects of aging in cells.
Nature 179: 472 (1957)
28. BRACK, W. -J., LINDNER, J. und JASPER, A.: Reaktionsformen der Kollagenfasern. II. Teil: Quellung, Kontraktion, Relaxation und Schrumpfung. Acta histochem. 13: 195-219 (1962)
29. BROWN, P. C. and CONSDEN, R.: Variation with age of shrinkage temperature of human collagen. Nature 181: 349-350 (1958)
30. BUDDECKE, E.: Angiochemische Alterswandlungen des Aortenbindegewebes. Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch., 24. Tg zu Bad Nauheim v. 11.-13. 4. 1958: 143-156 (1958)
31. Untersuchungen zur Chemie der Arterienwand V. Darstellung und chemische Zusammensetzung von Mucopolysacchariden der Aorta des Menschen. Hoppe-Seyler's Z. phys. Chem. 318: 33-55 (1960 a)

32. BUDDECKE, E.: Biochemie des Bindegewebes.
Angew. Chem. 72, 18: 663-677 (1960 b)
33. BÜRGER, M.: Altern und Krankheit. Leipzig (1957)
34. Krankheit und Altern als Problem der Biomorphose.
VEB G. Thieme, Leipzig (1960)
35. BÜRGER, M. und BEDY, E.: Der S-Gehalt des menschlichen Herzens
in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht.
Z. Altersforsch. 15: 177-184 (1962)
36. BUZAGH, A.: A Kollagen gélek szerkezete.
M. T. A. Kémiai Tud. Közleményei 2: 79 (1952)
37. CADAVID, N. G., DENDUCHIS, B. and MANCINI, R. E.: Soluble
Collagens in Normal Rat Skin, from Embryo to Adulthood.
Lab. Invest. 12, 6: 598-605 (1963)
38. CHVAPIL, M. and HRUZA, Z.: The influence of aging and under-
nutrition on chemical contractility. Gerontologia 3: 241-252 (1959)
39. CHVAPIL, M. and HRUZA, Z., with statistical collaboration of ROTH, Z.:
Physical and Physical-chemical Heterogeneity of collagen Fibres
from Rat Tail Tendon. Gerontologia 6: 102-117 (1962)
40. CHVAPIL, M. and JENSOVSKY, L.: The shrinkage temperature of
collagen fibres isolated from the tail tendons of rats of various age
and from different places of the same tendon.
Gerontologia 7: 18-29 (1963)
41. DAHMEN, G.: Die feingewebliche und submikroskopische Unterscheidung
von Alterungs- und Degenerationsveränderungen des Bindegewebes.
Z. Orthop. 97: 326-338 (1963)
42. DENHAM, H.: The free radical theory of aging; the effect of age on
serum mercaptan levels. J. Geront. 15: 38-40 (1960)
43. DENKHAUS, W. und SCHOTT, H. J.: Frühveränderungen des kollagenen
Bindegewebes nach Fibrinogeninjektion. Tagg. Nord- u. Westdtsh.
Path. 5. -6. 11. 66, Gießen. Zbl. allg. Path. path. Anat. 110: 173
(1967)
44. DIEZEL, P. B. und PFLEIDERER, A. jr.: Histochemische und polarisations-
optische Untersuchungen am Amyloid. Virch. Arch. path. Anat. 332:
552-567 (1959)
45. DISCHE, Z.: A modification of the carbazole reaction of hexuronic
acids for the study of polyuronids. J. Biol. Chem. 183: 489 (1950)
46. DIVRY, R. et FLORKIN, M.: Sur les propriétés optiques de l'amyloïde.
C. R. Soc. Biol. 97: 1808-1810 (1927)

47. DOBERAUER, W.: Effect of age on wound healing.
Geront. Clin. 4: 112-127 (1962)
48. DOKUMENTA GEIGY: Wiss. Tabellen, Basel (1960)
49. DYRBY, M. O.: Studies on the metabolism of the S³⁵, with special reference related to age. J. Geront. 14: 32-43 (1959)
50. v. EBNER, V.: Über eine optische Reaction der Bindegewebssubstanzen auf Phenol. S. ber. Akad. Wiss., Math. -naturw. Klasse 103: 162-189 Wien (1894)
51. ELSON, L. A. and MORGAN, W. T. J.: A colorimetric Method for the Determination of Glucosamine and Chondrosamine.
Biochem. J. 27: 1824-1828 (1933)
52. FABER, M. and MÖLLER-HOU, G.: The Human Aorta. V. Collagen and Elastin in the Normal and Hypertensive Aorta.
Acta path. microbiol. scand. 31, 3: 378-382 (1952)
53. FICKE, K., FRICKE, R., GATTOW, G. HARTMANN, F. und SCHWARZ, W. The structure and function of connective tissue. V. The differentiation of tendon connective tissue during growth and the effect desmotropic pharmacological agents. Z. Rheumaforsch. 19: 293-303 (1960)
54. FITCH, S. M., HARKNESS, M. L. R. and HARKNESS, R. D.: Extraction of collagen from tissues. Nature 176: 163-164, London (1955)
55. FITZPATRICK, M. and HOSPELHORN, V. D.: Changes in amino acid composition of aortic elastin with aging and atherosclerosis.
Amer. Heart. J. 62: 211-214 (1965)
56. FREY, A.: Technik der dichroitischen Metallfärbungen.
Wiss. Mikros. 42: 421-433 (1925)
57. Das Brechungsvermögen der Zellulosefasern.
Kolloidchem. Beih. 23: 40 (1926 a)
58. Der heutige Stand der Micellartheorie.
Ber. Dtsch. Bot. Ges. 44: 564-570 (1926 b)
59. FREY-WYSSLING, A.: Über die Dispersion von nativer und Hydrat-Cellulose. Helv. chim. Acta 19: 900-914 (1936)
60. Submicroscopic Morphology of Protoplasm. Elsevier Publishing Company, Amsterdam, Houston, London, New York (1953)
61. GIESEKING, R.: Mesenchymale Gewebe und ihre Reaktionsformen im elektronenmikroskopischen Bild.
Stuttgart: Gustav Fischer-Verlag (1966)
62. GOMPERTZ, B.: On the nature of the function expressive of the law of human mortality. Philos. Trans. 115 (Ser. A.): 513-585 (1825)

63. GORDON, H. A. and VERZAR, F.: Effects of aging on the reaction of stretched and unstretched collagen fibers to heat and formaldehyde treatment. *Gerontologia* 7: 85-93 (1963)
64. GROSS, J.: A study of certain connective tissue constituent with the electron microscope. *Ann. N. Y. Acad. Sc.* 52, Art. 7: 964 (1950)
65. GROSS, J. HIGHBERGER, J. H. and SCHMITT, F. O.: Some factors involved in fibrogenesis of collagen invitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 80: 462-465 (1952)
66. GUSTAVSON, K. H.: Hydroxyproline and stability of collagens. The function of hydroxyproline in collagens. *Acta chem. scand.* 8: 1299-1307 (1954)
67. The Chemistry and Reactivity of Collagen. Academic Press, New York (1956)
68. HALL, D. A.: Elastolysis and aging. C. Thomas (1964 a)
69. International Review of Connective Tissue Research. London, New York (1964 b)
70. HALL, D. A., REED, R. and TURNBRIDGE, R. E.: Electronmicroscope Studies of Elastic Tissue. *Expt. Cell. Res.* 8: 35-43 (1955)
71. HARMAN, D. in: The free radical theory of aging: the effect of age on serum mercapten levels. *J. Geront.* 15: 38-40 (1960)
72. Role of free radicals in aging. *Experientia* 18: 473-485 (1962)
73. HARRINGTON, W. F. and v. HIPPEL, P. H.: Formation and Stabilisation of the Collagen-Fold. Brookhaven Symposia in Biology 13 1960 and 1961. *Arch. Biochem. Biophys.* 92: 100-113 (1961)
74. HARTKNESS, R. D., MARKO, A. M., MUIR, N. N. and NEUBERGER, Z.: The metabolism of collagen and other proteins of the skin of rabbits. *Biochem. J.* 56: 558-560 (1954)
75. HARTMANN, F.: Neuere Ergebnisse der Bindegewebforschung. *Z. Rheumaforsch.* 17, 11/12: 445-468 (1958)
76. HARTMANN, F.: Das Wesen der gestörten Funktion des Bindegewebes. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 65: 27-53 (1959)
77. HAUSS, W. H. und JUNGE-HÜLSING, G.: Veränderungen des Bindegewebstoffwechsels durch toxische, infektiöse und allergische Einflüsse. *Z. Rheumaforsch.* 20, 5/6: 161-175 (1960)
78. HAUSS, W. H., HÜLSING, G. und SCHULTZE, W.: Über alternsbedingte und organgegebene Unterschiede des Stoffwechsels der Bindegeweb-Sulfomucopolysaccharide. *Z. Alternsforsch.* 14: 259-270 (1961)

79. HAUST, M. D.: Fine fibrils of extracellular space (microfibrils). Their structure and role in connective tissue organisation.
Amer. J. Path. 47: 1113-1137 (1965)
80. HEGGLIN, R.: Die viszerale Erscheinungen der Kollagenosen.
Z. Rheumaforsch. 20: 99-114 (1961)
81. HEVELKE, G.: Die Angiochemie der Gefäße und ihre physiologischen Alterswandlungen.
Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch., 27. Tagg. 131-142 (1961)
82. HÖLLING, H. -J. und DAHMEN, G.: Sublichtmikroskopische Untersuchungen an gesunden und degenerierten Sehnen.
Z. Orthop. 97: 339-352 (1963)
83. HÖRMANN, H.: Zur Frage der Quervernetzung von Collagen.
Leder 13: 79-86 (1962)
84. Zur biologischen Entwicklung des Kollagens: Einfluß der zunehmenden Verfestigung auf das physikalische, chemische und biochemische Verhalten des Kollagens.
Beitr. Silikose-Forsch. S-Bd. Grundfragen Silikoseforsch, Bd. 5: 205-216 (1963)
85. HRUZA, Z., and HLAVACKOVA, V.: The characteristics of newly formed collagen during aging.
Gerontologia 7: 221-232 (1963)
86. HUTTERER, E., RUBIN, E., SINGER, E. J. and POPPER, H.: Alkalisoluble and insoluble collagen in infant, adult and cirrhotic livers. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 102: 534-536 (1959)
87. JACKSON, D. S.: Structural Problems associated with the Formation of collagen Fibrils in vivo.
Blackwell Scientific Publications, Oxford (1957 a)
88. JACKSON, R. D.: Connective tissue growth stimulated by carrageenin.
Biochem. J. 65: 277-284 (1957 b)
89. JACKSON, D. S. and BENTLEY, J. P.: On the Significance of the extractable collagens.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 7: 37-41 (1960)
90. KAO, K. - Y. T., HILKER, D. M., MCGAVACK, Th. H.: Connective Tissue III. Collagen and Hexosamine Content of Tissues of Rats of Different Ages. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104: 359-361 (1960)
91. KAPLAN, D. and MEYER, K.: Aging of human cartilage.
Nature 183: 1267, London (1959)
92. Mucopolysaccharides of Aorta at Various Ages.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 105, 1: 78-81 (1960)

93. KARMAZSIN, L.: Untersuchungen der embryonalen Faserentwicklung mit histochemischen Methoden.
Acta morph. Acad. Sci. hung. 11: 361-373 (1962)
94. KOBRLE, V. und CHVAPIL, M.: Veränderungen von Kollageneiweißstoffen im Verlaufe des Alterns und bei der experimentellen Silikose.
Arch. Gewerbepath. 16: 526-538 (1958)
95. KOHN, R. R. and ROLLERSON, E.: Relations of age to swelling properties of human diaphragma tendon etc. J. Geront. 13: 241-247 (1958)
96. Aging of human collagen in relation to susceptibility of the action of collagenase. J. Geront. 15: 10-14 (1960)
97. KOLLER, S.: Graphische Tafeln. Darmstadt (1953)
98. KORTING, G. W., HOLZMANN, H. und KÜHN, K.: Biochemische Bindegewebsuntersuchungen in Analogie zum Sklerodermie-Problem.
Med. Welt 1964: 1751-1756 (1964)
99. KÜHN, K.: Über die Ausbildung einer hochunterteilten Querstreifung des Kollagens nach Gerben mit Phosphorwolframsäure und basischen Chromsalzlösungen. Leder 9: 217-222 (1958)
100. KÜHN, K., GRASSMANN, W. und HOFMANN, U.: Die elektronenmikroskopische "Anfärbung" des Kollagens und die Ausbildung einer hochunterteilten Querstreifung.
Z. Naturforsch. 13 b: 154-160 (1958)
101. KÜHN, K.: Untersuchungen über die intra- und intermolekularen Bindungen des Kollagens. Leder 14: 287-293 (1963)
102. KÜHN, K., HOFFMANN, U. und GRASSMANN, W.: Über die Verteilung der basischen Aminosäuren in der Tropokollagenmolekel.
Naturwiss. 17: 512 (1959)
103. KÜHN, K.: Neuere elektronenmikroskopische Untersuchungen an Kollagen. Leder 8, 2: 25-33 (1957)
104. KÜHN, K., HOLZMANN, H. und KORTING, G. W.: Quantitative Bestimmungen der löslichen Kollagenvorstufen nach Anwendung einiger Bindegewebstherapeutika.
Naturwiss. 49 b: 134 (1962)
105. KÜNTZEL, A. und PRAKKE, F.: Morphologie und Feinbau der kollagenen Faser. Biochem. Z. 267: 243-295 (1933)
106. KÜNTZEL, A.: Die Struktur der Kollagenfaser.
Kolloid-Z. 96: 273-291 (1941)
107. Fortschrittsbericht über die Einwirkung von salpetriger Säure auf Kollagen. Leder 8, 2: 34-45 (1957)

108. KUHN, R. und LEPPELMANN, H. J.: Galactosamin und Glucosamin im Knorpel in Abhängigkeit vom Lebensalter.
Liebig's Ann. Chem. 611: 254-261 (1958)
109. LANSING, A. J., ROBERTS, E., RAMASARMA, G. B., ROSENTHAL, B. and ALEX, M.: Changes with age in Amino Acid composition of arterial elastin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 76: 714-717 (1951)
110. LAVES, W. und CORRELL, H.: Alter und Bindegewebsgehalt des menschlichen Herzmuskels.
Dtsch. Z. gerichtl. Med. 50: 464-473 (1960)
111. LERCH, H.: Über Wärmeschrumpfung des Kollagengewebes.
Jb. Morph. mikrosk. Anat. 90: 206-220 (1951 a)
112. Über den Aufbau des Sehnengewebes.
Jb. Morph. mikrosk. Anat. 90: 192-205 (1951 b)
113. LETTERER, E.: Allgemeine Pathologie des Bindegewebes (unter Einschluß der sogenannten Kollagenosen).
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 65: 9-27 (1959)
114. LEUTHARDT, F.: Lehrbuch der Physiologischen Chemie.
15. Auflage, Berlin (1963)
115. LINDNER, J.: Die Polysaccharide des Bindegewebes.
Med. Monatsschr. 10: 643-649 (1960)
116. Über die Synthese der organischen Interzellulärsubstanz in Knorpel und Knochen. Verh. Dtsch. Ges. Path. 47: 150-157 (1963)
117. Histochemische Methodik des Nachweises von Polysaccharidkomponenten in Schleimstoffen und Grundsubstanzen.
Koll. Ges. Histochem. VIII. Symp. Wien 1962.
Acta histochem. Supp. 5, Jena (1965)
118. LINDNER, J., v. SCHWEINITZ, H. A. und FREYTAG, G.: Reaktionsformen von Kollagenfasern. I. Teil. Acta histochem. 9: 231-246 (1960)
119. LINKE, K. W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Differenzierung der Interzellulärsubstanz der menschlichen Lederhaut.
Z. Zellforsch. 42: 331-343 (1955)
120. LINZBACH, A. J.: Das Greisenherz. Dtsch. Internistentagg., Leipzig 1955. Verl. Volk u. Gesundheit, Berlin 1956, S. 324
121. LOEWI, G. and MEYER, K.: The acid mucosaccharides of embryonic skin. Biochem. biophys. Acta 27: 453-455 (1958)
122. MAJANIEMI, T. and KULONEN, E.: In Vitro Experiments with Granulation Tissue on the Maturation of Collagen.
Acta Path. Microbiol. Scand. 60: 187-193 (1964)

123. MARTIN, C. J. and AXELROT, A. E.: A Modified Method for Determination of Hydroxyproline.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 83: 461-462 (1953)
124. MECK, G. A.: Intracellular Collagen Fibres.
J. Physiol. 182: 3-4 (1966)
125. MERKOW, L., LALICH, J. J. and ANGEVINE, D. M.: Fibrillogenesis During Repair of Aortic Injury.
Arch. Path. 71: 64-70 (1961)
126. MEYER, K., HOFFMAN, P., LINKER, A., GRUMBACH, M. M. and SAMPSON, P.: Sulfated mucopolysaccharides of urin and organs in gargoylism (Hurler's syndrome). II. Additional studies.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 102: 587-590 (1959)
127. MEYER, K. and HOFFMAN, D. H.: Enzymatic degradation in the structural analysis of mucopolysaccharides of connective tissues.
Arzneimittelforschung 10: 379-381 (1960)
128. MILCH, R. A., MURRAY, R. A. and KENMORE, P. J.: Studies of Collagen Tissue Aging: Degradation of Glyceraldehyde-Treated Hide Collagen. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111: 554-556 (1962)
129. MILCH, R. A. and MURRAY, R. A.: Studies of Collagen Tissue Aging: Thermal Shrinkage of Metabolite-Treated Collagenous Tissues.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111: 551-554 (1962)
130. MISSMAHL, H. P.: Doppelbrechung der reticulären Faser und sich hieraus ergebender Nachweis von gerichtet eingelagerten Lipoiden in die reticuläre Faser. Z. Zellforsch. 45: 612-619 (1953)
131. MISSMAHL, H. P.: Polarisationsoptischer Nachweis von gerichtet in das Sarkoplasma eingelagerten Lipoiden.
Virch. Arch., Path. Anat. 328: 98-101 (1956)
132. Die Beeinflussung des polarisierten Lichtes durch die Amyloidsubstanz.
Ann. Histochem. Suppl. 2: 225-234 (1962)
133. MORSCHES, B., HOLZMANN, H. und KORTING, G. W.: Untersuchungen zum quantitativen Verhalten von Kollagen und nicht-kollagenem Eiweiß in der menschlichen Haut in Abhängigkeit von Alter und Lokalisation.
Arch. klin. exper. Dermatol. 224: 117-127 (1966)
134. MURRAY, D. H., WATTS, W. R. and RING, J. R.: Hexosamine and hydroxyproline concentrations in skin and buccal mucosa of an aging rat population. J. Geront. 16: 17-19 (1961)

135. NAGEOTTE, J.: Coagulation fibrillaire in vitro du collagène dissous dans un acide dilué. Séance du 4 janvier 1927 Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 184: 115-116 (1927)
136. Sur la solubilité du collagène dans les acides dilués. Compt. rend. Soc. de biol. 98: 15-16 (1928)
137. Trame et cellules dans le tendon. Arch. Biol. 47: 273-286 (1936)
138. NEMETH-CSOKA, M.: Untersuchungen über die kollagenen Fasern. I. Teil: Über die submikroskopische Struktur der in vitro präzipitierten kollagenen Fasern und die stabilisierende Rolle der sauren Mucopolysaccharide. Acta histochem. 9: 282-294 (1960)
139. Untersuchungen über die Kollagenfasern. II. Teil: Vergleichende chemische, polarisations- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Kollagenfasern mit Chondroitinschwefelsäure als Grundsubstanz. Acta histochem. 12: 255-276 (1961)
140. Untersuchung über die Kollagenfasern. III. Teil: Rolle und Wirkung der Plasmaproteine in vitro. Acta histochem. 16: 70-80 (1963)
141. Untersuchungen über die Kollagenfasern. IV. Teil: Die Rolle und Wirkung der Plasmaproteine bei der Bildung von Kollagenfasern in vitro nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen. Acta histochem. 19: 249-253 (1964)
142. Untersuchungen über die Kollagenfasern. V. Teil: Über die durch das Altern bedingten Veränderungen im Bindegewebe. Acta histochem. 20: 65-81 (1965)
143. NEMETSCHKE, Th., GRASSMANN, W. und HOFMANN, U.: Über die hochunterteilte Querstreifung des Kollagens. Z. Naturforsch. 10 b: 61-68 (1955)
144. NEMETSCHKE, Th.: Elektronenmikroskopische Struktur der Haut. Interzellulärsubstanzen des Bindegewebes. Arch. klin. exp. Dermat. 211: 35-49 (1960)
145. NEUBERGER, A. und SLACK, H. G. B.: The metabolism of collagen. Biochem. J. 53: 47-52 (1953)
146. NEUMAN, R. E. and LOGAN, M. A.: The determination of hydroxyprolin. J. biol. Chem. 184: 299-301 (1950 a)
147. The determination of collagen and elastin in tissues. J. biol. Chem. 186: 549-551 (1950 b)

148. NIESSING, K. und ROLLHÄUSER, H.: Über den submikroskopischen Bau des Grundhäutchens der Hirnkapillaren.
Z. Zellforsch. 39: 431-446 (1954)
149. OLSEN, B. R.: Election Microscope Studies on Collagen.
I. Native Collagen Fibrils. Z. Zellforsch. 59: 184-198 (1963)
150. Electron microscope studies on collagen.
III. Tryptic digestion of tropocollagen macromolecules.
Z. Zellforsch. 61: 913-919 (1964)
151. ORECHOWITSCH, V. N., TUSTANOWSKIJ, AA. i PLOTNIKOWA, N. J.:
O prokolagenic kozhi. D. A. N. SSSR 60: 837-842 (1948)
152. ORLOWSKA, G. V., SAIDES, A. L. i TUSTANOWSKIJ, AA.:
Obrazovaniye kollagena v embryogenezu.
D. A. N. SSSR. 111: 1396-1402 (1956)
153. PAHLKE, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Interzellulärsubstanz des menschlichen Sehnengewebes.
Zellforsch. 39: 421-430 (1957)
154. PERNIS, B. and CLERICI, E.: Carbohydrates, Collagen and Elastin of the Normal Aortic Wall and Arteriosclerotic Hyaline Places.
Exper. XIII, 9: 351-353 (1957)
155. PORTER, K. R.: Cell fine structure and biosynthesis of intercellular macromolecules. Biophys. J., 4. Supp.: 167-201 (1964)
156. PROBST, A. und RATZENHOFER, M.: Zum Verhalten der Sehnenfibrillen während der Entwicklung, im höchsten Alter und unter pathologischen Bedingungen: Über die Fibrillen im mesenchymalen Hyalin. Z. wiss. Mikroskop. 62, 3: 183-190 (1953/1954)
157. PYÖRÄLÄ, K., PUNSAR, S., SEPPÄLÄ, T. and KARLSSON, K.:
Mucopolysaccharides of the Aorta and Epiphyseal Cartilage in Lathyrotic Growing Rats and Rat Fetuses.
Acta path. Mikrobiol. Scand. XLI, 6: 497-510 (1957)
158. RAMACHANDRAN, G. N. and KARTHA, G.: Structure of collagen.
Nature 174: 269 (1954)
159. RANDERATH, E.: Das Bindegewebe.
Verh. Dtsch. Orth. Ges. 39. Kongreß, Heidelberg 1951,
Beilageheft d. Z. Orthop. 81, 12-28 (1952)
160. RICH, A. R., VOISIN, G. A. and BANG, F. B.: Elektron Microscopic Studies of the Alteration of Collagen Fibrils in the Arthus Phenomenon.
Bull. John Hopkins Hosp. XCII: 222-243 (1953)
161. RINNE-BEREK: Anleitung zu optischen Untersuchungen mit dem Polarisationsmikroskop. II. Auflage von Prof. Dr. M. Berek, herausgegeben von Claussen, C. H., Driesen, A. und Rösch, S. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 1953

162. ROLLHÄUSER, H.: Konstitutions- und Altersunterschiede in Festigkeit kollagener Fibrillen. Jb. Morph. mikrosk. Anat. 90: 157-179 (1951 a)
163. Die Festigkeit menschlicher Sehnen nach Quellung und Trocknung in Abhängigkeit vom Lebensalter. Jb. Morph. mikrosk. Anat. 90: 180-191 (1951 b)
164. Die Zugfestigkeit der menschlichen Haut. Jb. Morph. mikrosk. Anat. 90: 249-261 (1951 c)
165. Untersuchungen über den submikroskopischen Bau kollagener Fasern. Jb. Morph. mikrosk. Anat. 92: 1-28 (1952)
166. ROMHANYI, G.: Über die submikroskopische Struktur des Amyloids. 11. Tg. Ung. Path., Budapest 1942. Zbl. allg. Path. path. Anat. 80: 407-421 (1943)
167. Zur Frage der submikroskopischen Struktur des Amyloids. Zbl. allg. Path. path. Anat. 95: 130-138 (1956)
168. Über die submikroskopische strukturelle Grundlage der metachromatischen Reaktion. Acta histochem. 15: 201-233 (1963)
169. SCHAUB, M. C.: Qualitative and quantitative changes of collagen in parenchymatous organs of the rat during aging. Gerontologia 8: 114-122 (1963)
170. SCHAUENSTEIN, E. and STANKE, D.: Die Ultraviolettabsorption von Sehnenkollagen I. Makromol. Chem 5: 262-286 (1951)
171. SCHILLER, S. and DÖRFMAN, A.: Effect of Age on the Heparin Content of Rat Skin. Nature 1960: 111-112 (1960)
172. SCHMIDT, W. J.: Bausteine des Tierkörpers im polarisierten Licht. Bonn (1924)
173. Desomierung, Gold- und Manganbehandlung osmierter Nervenfasern und ihr Einfluß auf die Polarisationsoptik. Z. wiss. Mikrosk. 54: 390-397 (1937)
174. Über natürlichen Dichroismus tierischer Gewebe. Z. wiss. Mikrosk. 54: 379-389 (1937)
175. Wesen und Bedeutung polarisationsmikroskopischer Untersuchungen an tierischen Geweben. Behringwerk-Mitteilungen 28: 84-97 (1954)
176. Instrumente und Methoden zur mikroskopischen Untersuchung optisch anisotroper Materialien mit Ausschluß der Kristalle, in: FREUND, H.: Handb. Mikrosk. in der Technik, Bd. I, 1: 149-315, Frankfurt (1957)
177. SCHMITT, F. O. and GROSS, J.: Further progress in the electron microscopy of collagen. J. Amer. Leath. chem. Ass. 43: 658-673 (1948)

178. SCHOTT, H. J.: Polarisationsoptische Untersuchungen über gerichteten Eiweißeinbau in der Niere.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 49: 186-191 (1965)
179. Studien über die Feinstruktur normaler und erkrankter Bindegewebsfasern. Habilitationsschrift, Mainz (1966)
180. SCHOTT, H. J. und DENKHAUS, W.: Zur Morphologie der Kittsubstanz-Fibrillen-Beziehung nach Einwirkung von Fibrin bzw. Fibrinogen auf die Kollagenfaser. Klin. Wschr. 44, 9: 530 (1966)
181. SCHULTZ, A.: Über die Chromotropie des Gefäßbindegewebes in ihrer physiologischen und pathologischen Bedeutung insbesondere für die Arteriosklerose. Virch. Arch. 239, 415-427 (1922)
182. SCHWARTZ, Ph.: Morphologische und pathogenetische Untersuchungen über Veränderungen im Greisenalter.
Zbl. allg. Path. path. Anat. 106: 320-332 (1964)
183. Über Amyloidose des Gehirns, der Langerhansschen Inseln und des Herzens alter Personen.
Zbl. allg. Path. path. Anat. 108: 169-187 (1965)
184. Neue Beiträge zur Pathologie des Alterns.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 56: 368-375 (1966)
185. SCHWARZ, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Aufbau der Sklera und der Cornea des Menschen.
Z. Zellforsch. 38: 26-49 (1953)
186. SMITH, Ch., SEITNER, M. M. and WANG, H. -P.: Aging Changes in the Tunica Media of the Aorta. Anat. Rec. 109, 1: 13-31 (1951)
187. SMITH, Q. T.: Effects of Cortison Administration on Cutaneous Collagen and Hexosamine in Rats of Various Ages.
J. invest. Dermat. 39, 3: 219-224 (1962)
188. SMITS, G.: Quantitative Interrelationships of the Chief Components of some Connective Tissues During Foetal and Post-Natal Development in Cattle. Biochim. Biophys. Acta 25: 542-548 (1957)
189. SOBEL, H. and MARMORSTON, J.: The effect of cortisone on the collagen and hexosamine content of the skin and femurs of one year old rats. Endocrinology 55: 21-24 (1954)
190. The Possible Role of the Gel-Fiber-Ratio of Connective Tissue in the Aging Process. J. Geront. 11: 1-7 (1956)
191. SOBEL, H., GABAY, S., WRIGHT, E. T., LICHTENSTEIN, J. and NELSON, N. H.: The Influence of Age upon the Hexosamine Collagen Ratio of Dermal Biopsies from Men.
J. Geront. 13, A, 2: 128-131 (1958 a)

192. SOBEL, H., WRIGHT, E. T. and GABAY, S.: Urinary steroids and the hexosamine collagen ratio of dermal punches.
Gerontologia 2: 59-63 (1958 b)
193. SOBEL, H., GABAY, S. and BONORRIS, G.: Studies on hexosamine and collagen in tissue of rats which survived X-irradiation.
J. Geront. 15: 253-257 (1960)
194. STARY, Z.: Chemistry of the Cutis. In: J. JADASSOHN: Hdb. Haut- und Geschlechtskrankheiten, Erg. -Werk I/3, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1963)
195. STEGEMANN, H.: Mikrobestimmung von Hydroxyprolin mit Chloramin-T und p-Dimethylaminobenzoldehyd.
Hoppe-Seyler's Z. Phys. Chem. 311: 41-50 (1958)
196. STEIGLEDER, G. K.: Verhalten von Gefäßen und Bindegewebe in der Haut des menschlichen Unterschenkels in verschiedenen Altersperioden. *Zbl. Phlebolog.* 3, 4: 231-242 (1964)
197. STREHLER, B. L.: Time, Cells and Aging.
Acad. Press, New York (1962)
198. SULITZEANU, D.: Antigenic components of rat connective tissue.
Brit. J. Exp. Path. 46: 481-488 (1965)
199. SZIRMAI, J. A.: Quantitative approaches in the histochemistry of mucopolysaccharide. *J. Histochem. Cytochem.* 11: 24-34 (1963)
200. THER, L., SCHRAMM, H. und VOGEL, G.: Über die antagonistische Wirkung von Trijodthyronin und Progesteron auf den Prednisoloneffekt am Epiphysenknorpel. (Prüfung auf Reißfestigkeit.)
Acta Endocrinol. 42: 29-38 (1963)
201. TRISTRAM, G. R.: In "The Proteins" ba H. Neurath und B. Bailey, eds. Vol. I., Part. A, p. 181. Academic Press, New York (1953)
202. VERZAR, F.: Das Altern des Kollagens.
Helv. physiol. Acta 14: 207-220 (1956)
203. The ageing of connective tissue. *Gerontologia* 1: 363-378 (1957)
204. Nachweis der Zunahme der Bindung von Hydroxyprolin im Kollagen der Haut mit dem Alter. *Gerontologia* 4: 113-119 (1960)
205. The age of the individual as one of the parameters of pharmacological activity. *Acta physiol. Hungar.* 19: 313-318 (1961)
206. VERZAR, F. und WILLENEGGER, H.: Das Altern des Kollagens in der Haut und in den Narben. *Schweiz. Med. Wschr.* 91: 1234 (1961)
207. VERZAR, F.: Differenzierung verschiedener Vernetzungen (crosslinks) des Kollagens. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 335: 38-52 (1963)
208. Experimentelle Gerontologie. Stuttgart (1965)

209. WASSERMANN, F.: Die Feinstruktur des Bindegewebes in gegenwärtiger Sicht als Grundlage der Funktion und der pathologischen Veränderungen. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 65: 852-862 (1959)
210. WÖHLISCH, E.: Die Temperaturabhängigkeit der Dimensionen des elastischen Gewebes. *Z. Biol.* 85: 379-390 (1927)
211. WÖHLISCH, E., DU MESNIL DE ROCHMONT, R. und GERSCHLER, H.: Untersuchungen über die elastischen Eigenschaften tierischer Gewebe I.: Elastizitätsmodul, Zerreißfestigkeit, Arbeitsvermögen und elastische Vollkommenheit. *Z. Biol.* 85: 325-342 (1927)
212. WOESNER, J. F. jr.: The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. *Arch. Biochem.* 93: 440-447 (1961)
213. WOLFF, J.: Elektronenmikroskopische Untersuchung über die Altersveränderung am interstitiellen Bindegewebe des menschlichen Herzens. *Z. Rheumaforsch.* 20: 175-191 (1961)
214. WOLPERS, C.: Elektronenmikroskopie der Plasma-Derivate. *Grenzgeb. Med.* 2, 12: 527-535 (1949)
215. WOOD, G. C.: The heterogeneity of collagen solutions and its effect on fibril formation. *Biochem. J.* 84: 429 (1962)
216. ZACHARIADES, M. P. A.: Recherches sur la structure du tissue conjonctif. *C. R. Soc. Biol.* 52: 182-198, Paris (1900)

Herrn Prof. Dr. H. Bredt (Direktor des Path. -Institutes)
und im besonderen Herrn Priv. -Doz. Dr. H. J. Schott,
der mir die Anregung zu diesen Untersuchungen sowie
zahlreiche, wertvolle Hinweise bei ihrer Ausführung gab,
danke ich für die Unterstützungen bei der Durchführung
dieser Arbeit.

Für die Beratung bei der statistischen Auswertung der Er-
gebnisse und die Durchführung sowie Prüfung der Berech-
nungen danke ich Herrn Priv. -Doz. Dr. H. J. Lange,
Oberassistent bei Herrn Prof. Dr. Dr. S. Koller (Direktor
des Institutes für medizinische Statistik und Dokumentation).

LEBENS LAUF

Am 26.11.1942 wurde ich, Wolfgang Denkhäus, als zweites Kind des Zollsekretärs Franz Denkhäus und seiner Ehefrau Gertrud in Malmedy geboren. Meine Kindheit verbrachte ich in Bad Lippspringe, wo ich Ostern 1948 in die katl. Volksschule eingeschult wurde. 1952 wechselte ich infolge einer Versetzung meines Vaters für ein halbes Jahr in die Volksschule Vorsfelde über und trat am 1.4.1953 in die städt. Oberschule Wolfsburg ein. Nach einem Umzug meiner Eltern wechselte ich am 1.12.1953 in das städt. neusprachliche Gymnasium Paderborn über, wählte den math. -naturwissenschaftlichen Zweig und legte am 20.2.1962 an dieser Schule die Reifeprüfung ab.

Zum Sommersemester 1962 immatrikulierte ich mich an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz in der Medizinischen Fakultät, legte dort nach dem Wintersemester 1962/63 die naturwissenschaftliche -, nach dem Sommersemester 1964 die ärztliche Vorprüfung ab und bestand am 12.1.1968 das medizinische Staatsexamen.

Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent am Pathologischen Institut der Universität Mainz (Direktor: Prof. Dr. H. Bredt) tätig.

